

# САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Направление химия

## ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

### ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЗАКОНОМЕРНОСТИ ОБРАЩЕННО- ФАЗОВОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ПРИ НИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ ОРГАНИЧЕСКИХ МОДИФИКАТОРОВ В ЭЛЮЕНТЕ

Студент 2 курса

Овчинникова Ольга Константиновна

Уровень образования:

Магистратура

И. о. заведующего кафедрой:

Д.х.н., профессор, Ермаков С.С.

Научный руководитель:

Д.х.н., профессор, Родинков О.В.

Санкт-Петербург

2018

## Оглавление

Перечень условных обозначений.....	3
Введение.....	4
1 Обзор литературы .....	6
1.1 Обращенно-фазовая жидкостная хроматография .....	6
1.1.1 Температурная зависимость удерживания в обращенно-фазовой хроматографии.....	7
1.1.2 Влияние температуры на селективность в обращенно-фазовой жидкостной хроматографии .....	10
1.1.3 Влияние температуры на эффективность колонки (капиллярные колонки в жидкостной хроматографии) .....	11
1.1.4 Влияние температуры на эффективность упакованной колонки .....	12
1.2 Программирование температуры и изотермическое разделение .....	14
1.3 Разделение в очень горячей воде.....	16
1.4 Разделение в неводных системах.....	16
1.5 Практическое значение высокотемпературной жидкостной хроматографии .	18
1.6 Наличие стационарной газовой фазы в порах сорбента.....	18
1.7 Вывод к главе 1 .....	22
2. Экспериментальная часть .....	23
2.1 Применяемая аппаратура и реактивы.....	23
2.3 Методика приготовления модельных растворов.....	24
2.4 Обработка экспериментальных данных .....	25
3. Результаты и их обсуждение .....	28
Выводы .....	41
Список использованной литературы .....	42

### **Перечень условных обозначений**

ВТЖХ – высокотемпературная жидкостная хроматография  
ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография  
ВЭТТ – высота, эквивалентная теоретической тарелке  
ДМФА – диметилформамид  
ЖГХ – жидкостно-газовая хроматография  
ЖХ ЯМР – жидкостная хроматография в сочетании с ядерно-магнитным резонансом  
ИС – изопропиловый спирт  
ЛОВ – летучие органические вещества  
ОФ ВЭЖХ – обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография  
ПК – персональный компьютер  
ПС ДВБ – полистирол дивинил – бензол  
ПТФЭ – политетрафторэтилен  
ПФ – подвижная фаза  
СФ – стационарная фаза  
УФ – ультрафиолетовый  
ЧТТ – число теоретических тарелок  
ЯМР – ядерно-магнитный резонанс  
ОТ – open tubular  
PHW – LC – pressure high water liquid chromatography

## Введение

В настоящее время, жидкостная хроматография является одним из главных методов, используемых в аналитической химии для определения и обнаружения органических соединений.

Основной задачей развития жидкостной хроматографии является повышение селективности и эффективности разделения. В последнее время все более широкое распространение получил термин высокотемпературная жидкостная хроматография (ВТЖХ) [1]. ВТЖХ (также называется жидкостная хроматография горячей воды под давлением, РНВ-LC) является формой ВЭЖХ, в которой используют чистую воду в качестве элюента. Ее отличие от обычной ВЭЖХ в том, что элюирующая сила увеличивается с повышением температуры, а не с добавкой органического растворителя. Отсутствие органических растворителей делает анализ более экологически чистым, и при высокой температуре элюирования улучшает эффективность массообмена [2]. Известно, что при повышении температуры подвижной фазы и колонки, вязкость подвижной фазы и давление в системе уменьшаются. Эффективность разделения, массоперенос и оптимальное значение скорости потока увеличивается при повышении температуры, делая возможным применение высокой скорости подачи элюента. Низкая вязкость и большая скорость диффузии в подвижной фазе при высоких температурах позволяют значительно понизить сопротивление массопереносу, что приводит к улучшению характеристик кривых Ван-Деемтера. Таким образом, ВТЖХ оказывается более быстрой и эффективной по сравнению с ВЭЖХ при комнатной температуре [3].

В связи с вышеперечисленными преимуществами за последние десять лет значительно возрос интерес к исследованию влияния температуры на хроматографические параметры в обращенно-фазовой жидкостной хроматографии (рис.1). Однако ВТЖХ имеет ряд недостатков. Во-первых, ограниченная доступность стабильных при высоких температурах материалов для изготовления сорбентов. Во-вторых, возможное разложение неустойчивых соединений. Хотя, авторы [4] утверждают, что соединения не успевают разложиться, так как время анализа очень мало.

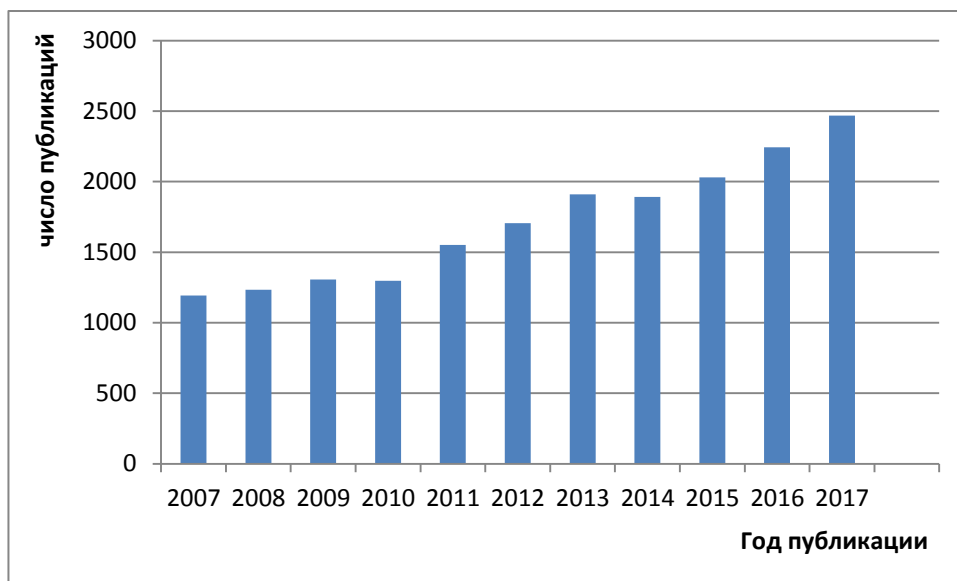


Рис. 1. Число публикаций в год, где в той или иной степени затрагиваются вопросы влияния температуры на хроматографические параметры в обращенно-фазовой жидкостной хроматографии [по данным ScienceDirect].

Цель настоящей выпускной квалификационной работы – установить характер влияния температуры на закономерности ОФ ВЭЖХ для аналитов с различной летучестью при отсутствии и низких содержаниях органических модификаторов в элюенте с учетом возможного существования газовой фазы в порах сорбента. При этом необходимо было решить следующие задачи:

1. Исследовать влияние температуры на хроматографические характеристики.
2. Исследовать влияние содержания ацетонитрила и изопропилового спирта на хроматографические характеристики.
3. Проследить как изменяется быстродействие хроматографической колонки от температуры и содержания органических модификаторов в элюенте.

## 1 Обзор литературы

### 1.1 Обращенно-фазовая жидкостная хроматография

Обращенно-фазовая хроматография – это вариант жидкостной хроматографии, в котором подвижная фаза является более полярной, чем неподвижная. В данном случае используются сорбенты с привитыми неполярными фазами (чаще всего, длинными алкильными группами) и полярный элюент (водно-метанольные или водно-ацетонитрильные смеси) [5,6].

Органические соединения (ароматические и гетероциклические соединения; вещества, молекулы которых содержат функциональные группы  $C=O$ ,  $C=S$ ,  $N=O$ ,  $N=N$  и сопряженные связи) имеют интенсивные полосы поглощения в диапазоне длин волн 200-800 нм, что и определяет наибольшую распространенность (~70 %) фотометрических методов детектирования в ВЭЖХ [7]. Спектрофотометрический детектор позволяет регистрировать разделяемые вещества по поглощению света при любых длинах волн УФ и видимого диапазона. В качестве источника света используют дейтериевую лампу с непрерывным спектром от 190 до 600 нм [7]. Для измерения светопоглощения подвижной фазы на выходе из колонки используют проточные фотометрические кюветы (ячейки) Z-образной формы (рис. 1). Для предотвращения размывания хроматографических пиков объем ячейки стараются сделать как можно меньше: 1 ~ 10 мкл. Длина оптического пути ячейки составляет от 2 до 10 мм. При измерениях в УФ-области оптические окна кюветы необходимо изготавливать из кварца [8]. На рис.1.1 представлено схематическое изображение проточной фотометрической кюветы.

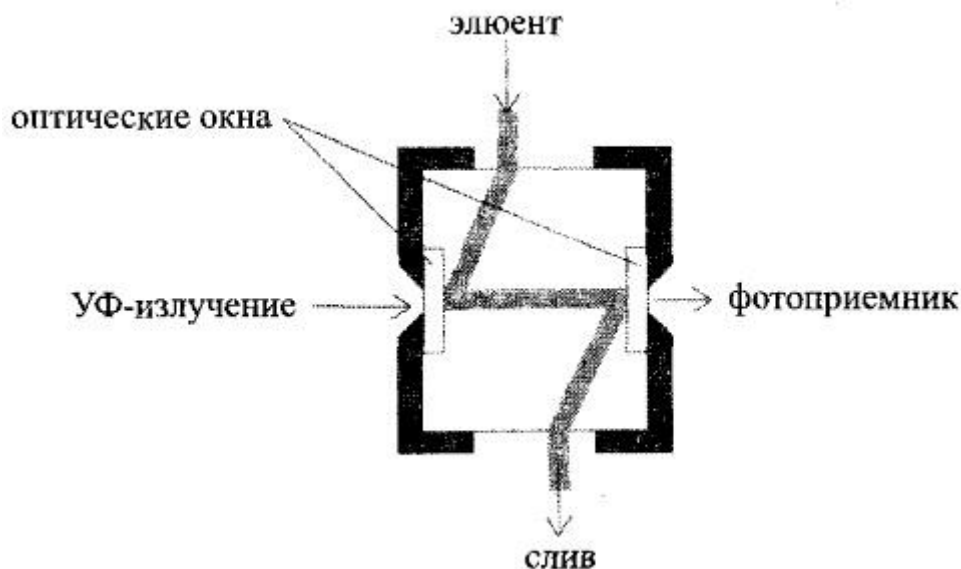


Рис. 1.1. Проточная фотометрическая кювета Z-образной формы при спектрофотометрическом детектировании.

#### *1.1.1 Температурная зависимость удерживания в обращенно-фазовой хроматографии*

ОФ ЖХ является наиболее широко используемым видом жидкостной хроматографии, хотя механизм удерживания остается все еще неясным. Было проведено много исследований, чтобы выявить механизм удерживания в ОФ ЖХ, и были развиты две основные теории. Сольвофобная теория, впервые примененная в ОФ ЖХ Хорватом и сотрудниками в 1976 году, предполагает, что удерживание определяется в основном гидрофобными взаимодействиями между подвижной фазой и сорбатами [9]. Роль стационарной фазы сольвофобной теорией минимизируется. И удерживание, согласно ей, происходит посредством адсорбции, а не посредством распределения. Эта теория описывает двуступенчатый механизм удерживания, который включает образование полости, адекватной размеру молекулы сорбата в подвижной фазе и переход сорбата в эту полость. В соответствии с сольвофобной теорией движущей силой удерживания является изменение свободной энергии, связанной с двуступенчатым механизмом перехода сорбата [10].

Распределительная модель удерживания более подробно рассматривает роль стационарной фазы в процессе удерживания. В 1983 году Мартин и Боем опубликовали первую модель удерживания, рассматривающую влияние структуры

цепи стационарной фазы. Статистическо-механическая модель описывает стационарную фазу как «дышащую» поверхность, объем которой может увеличиваться или уменьшаться в зависимости от состава подвижной фазы [11].

Ценная информация о механизме удерживания в ОФ ЖХ может быть получена путем исследования температурной зависимости удерживания. Влияние температуры на удерживание определяется [10]:

$$\ln k' = - \frac{\Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta S^\circ}{R} + \ln \emptyset \quad (1.1)$$

Где  $k'$  – фактор емкости сорбата [ $k' = (t_R - t_0)/t_0$ ],  $t_R$  – время удерживания аналита,  $t_0$  – мертвое время,  $\Delta H^\circ$  – энтальпия перехода сорбата из подвижной в стационарную фазу,  $\Delta S^\circ$  – энтропия перехода из подвижной фазы в стационарную фазу,  $R$  – универсальная газовая постоянная,  $T$  – абсолютная температура,  $\emptyset$  – отношение фаз к колонке (объем стационарной фазы, деленный на объем ПФ). Это выражение показывает, что график  $\ln k' - 1/T$  (называемый графиком Вант-Гоффа) имеет наклон  $-\Delta H^\circ/R$  и отрезок, отсекаемый по оси  $Y$ , равный  $\Delta S^\circ/R + \ln \emptyset$  при условии, что  $\Delta H^\circ$  не зависит от температуры (то есть, если график линеен). Это позволяет легко рассчитать термодинамические константы  $\Delta H^\circ$  и  $\Delta S^\circ$  для хроматографической системы, при условии, что фазовое отношение  $\emptyset$  известно или может быть вычислено. Эти константы нужны для оценки термодинамической движущей силы удерживания.

Температурная зависимость удерживания изучалась и ранее [12-15]. Линейные графики Вант-Гоффа наблюдались для различных мономерных и полимерных, коммерчески доступных C18-колонках в температурных областях около 30 °C, с использованием водноорганической ПФ. В этих исследованиях значения  $\Delta H^\circ$  вычислялись по наклону графиков Вант-Гоффа, но значения  $\Delta S^\circ$  все же не приводились, так как «структурные детали привитой алкильной фазы и силикагеля, используемого как основной материал, в коммерчески доступных упаковках обычно неизвестны». В еще одном исследовании фазовое отношение коммерческой колонки было рассчитано с использованием модели, основанной на информации от фирмы, и были определены оба значения  $\Delta H^\circ$  и  $\Delta S^\circ$  [16].

Нелинейные графики Вант-Гоффа также наблюдались в температурных исследованиях обращенно-фазовых СФ. Нелинейное поведение графиков Вант-Гоффа может наблюдаться из-за смены механизма удерживания. Фазовые переходы



стационарных фаз могут вызывать нелинейное поведение, но морфологические изменения в привитом слое в действительности не обязательно меняют внутренний механизм. Обычно, в исследованиях, показывающих нелинейные зависимости, оценивались температурные области 45 и выше. Отклонения от линейности для мономерных стационарных фаз C18 наблюдались приблизительно при 22 °С при отсутствии растворителя, с использованием газохроматографического метода [10].

Рассмотрим рис. 1.2, который отражает зависимость удерживания ретиноидов (о – все транс-ретиноиды,  $\Delta$  - 13-цис-ретиноевая кислота,  $\times$ - все транс-ретиновые кислоты) от температуры. Из рисунка видно, что кривая Вант-Гоффа имеет линейный вид и удерживание ретиноидов тем слабее, чем выше температура, а в интервале температур 25- 70 °С различий в селективности не наблюдается [17]. Изменение селективности при высоких температурах может иметь место, поскольку растворенное вещество с большим значением  $\Delta H$  в большей степени зависит от высокой температуры.

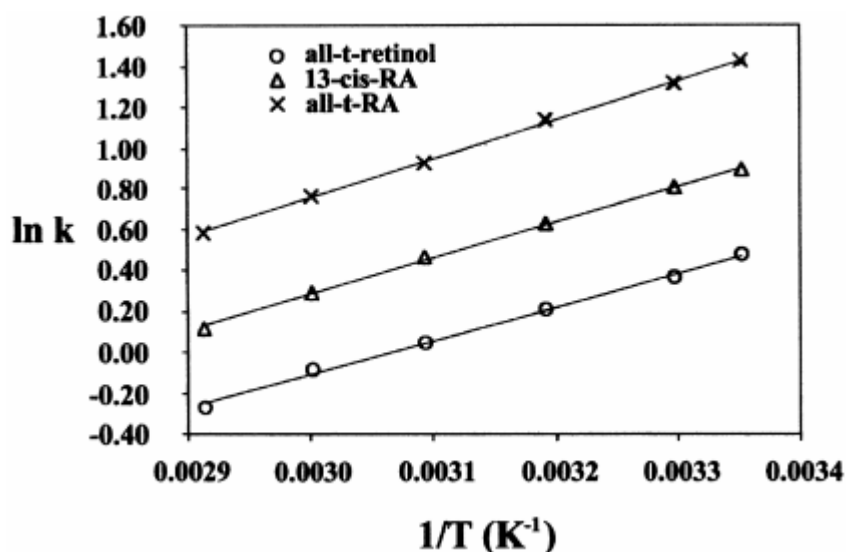


Рис. 1.2 Кривые Вант-Гоффа в соотношении температура - удерживание ретиноидов.

В зависимости от варьирования температуры, изменение в удерживании может быть вызвано изменением как энтальпийного фактора, так и энтропийного. Значение энтальпии, которая не является линейной в интервале температур, может меняться в результате нелинейного роста энтальпии адсорбции, различной кинетики десорбции разных функциональных групп, двойного механизма удерживания или в результате изменения температуры подвижной фазы.

Повышение температуры также приводит к снижению вязкости подвижной фазы, которая уменьшает давление в колонке. Поскольку энтальпия – функция внутренней энергии  $\Delta E$ , парциально-молярного объема  $\Delta V_m$  и давления  $p$ ,  $\ln k$  может быть представлен в следующем виде:

$$\ln k = -\frac{\Delta E}{RT} - p\Delta V_m/RT + \frac{\Delta S}{R} + \ln \beta \quad (1.2)$$

$\Delta V_m$  не зависит от температуры, следовательно, можно предсказать эффект температуры на соотношение давления и  $\ln k$ . Влияние давления на удерживание авторами [17] не учтено, поскольку оно незначительно при анализе молекул небольшого размера.

С другой стороны, изократическое удерживание, как функция от температуры, может быть описано следующим уравнением [18]:

$$\log k = A + B/T_k, \quad (1.3)$$

где  $A$  и  $B$  – постоянные для данного растворителя;  $T_k$  – некоторая заданная температура. Тогда, изменение удерживания с изменением температуры выражено в следующем виде:

$$\delta \log k[T] = B\left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1}\right) \quad (1.4)$$

При градиентном элюировании время удерживания, как функция от температуры выражена, как:

$$t_R \approx A'' - B''T_k \quad (1.5)$$

Изменение времени удерживания при изменении температуры принимает следующий вид:

$$\delta t_R \approx B''(T_1 - T_2) \quad (1.6)$$

Иными словами, изменение температуры прямо пропорционально изменению параметров удерживания.

### 1.1.2 Влияние температуры на селективность в обращенно-фазовой жидкостной хроматографии

Если разница энтальпий двух растворенных веществ при различных температурах связана с единым механизмом удерживания (например, гидрофобные взаимодействия в гомологическом ряду), то в результате повышения температуры, как правило, ожидается ухудшение селективности [19]. Исследования с использованием малых частиц растворенных веществ в обращенно-фазовых системах, с преимущественно простым гидрофобным механизмом взаимодействия, показали, что повышенные температуры часто приводят к снижению селективности

[20]. В статье [21] была изучена селективность с помощью модели сольватационных параметров для соединений, отличающихся размером частиц и наличием водородных связей и установлено, что эффект температуры на селективность проявляется в меньшей степени, чем изменение состава элюента. Так, например, наблюдается аналогичное удерживание алкилбензолов как при градиентном элюировании 70-85 % ацетонитрила (добавление по 6% в минуту), так и увеличение температуры от 30 °C до 120 °C (каждую минуту увеличение температуры на 30 °C) [20-22].

В ряде работ [23-25], Zhu и др. исследовали сочетание градиентного элюирования и температуры (диапазон температур 35-75 °C) для предсказания разделения аналитов с помощью компьютерного моделирования. Особенно незначительно наблюдается корреляция между температурой и удерживанием аналита для ионизированных соединений. Гидрофобные соединения с несколькими замещенными полярными группами показали эффект уменьшения селективности для комбинированного метода градиентного элюирования и повышенных температур. Селективность разделения аминов увеличивалась при повышенных температурах, за некоторыми исключениями. Как правило, можно ожидать, что ионизируемые соединения будут обладать улучшенной селективностью при повышенных температурах. Это согласуется с экспериментальными результатами и не зависит от типа колонки с обращенной фазой.

### *1.1.3 Влияние температуры на эффективность колонки (капиллярные колонки в жидкостной хроматографии)*

Капиллярные колонки, которые в англоязычной литературе обозначаются как Open Tubular (OT) используются преимущественно в газовой хроматографии и сверхкритической флюидной хроматографии, а в ВЭЖХ не находят широкого применения. В литературных данных [26, 27] показано использование таких колонок при гораздо более высокой сжимаемости газа, по сравнению с жидкостью. При повышенной температуре вязкость жидкости уменьшается, а коэффициент диффузии увеличивается, в результате улучшения массопереноса улучшается эффективность колонки. Использование очень высоких температур, около 200 °C, приводит к резкому снижению вязкости, в результате чего можно использовать капиллярные

колонки длиной 50 м и числом теоретических колонок до  $10^6$ , как показано на рис. 1.3.

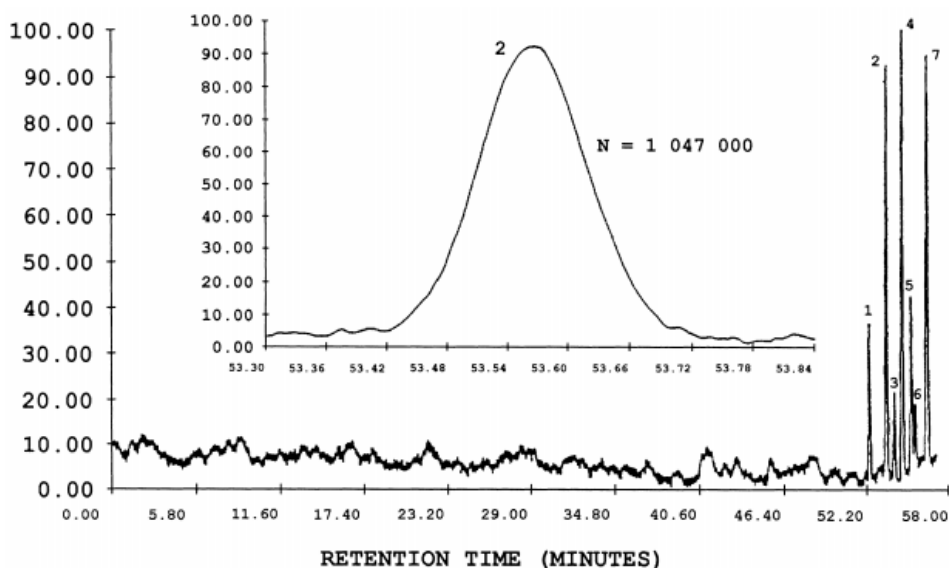


Рисунок 1.3. Кривая на капиллярной колонке 20m×51μm при 200 °С. Подвижная фаза ацетонитрил – вода (50:50). Скорость 0.65 мл/мин. ЧТТ =  $10^6$  [27].

В качестве стационарной фазы использовали метилполиоксидан, поскольку при температуре, выше 150 °С, неподвижная фаза с водными растворителями практически полностью разрушается. Капиллярные колонки использовали совместно с масс-спектрометром из-за низкой скорости потока. При низких температурах уменьшается скорость диффузии, которая требует меньших внутренних диаметров для достижения одной и той же высоты тарелки, это приводит к увеличению противодавления из-за повышенной вязкости. Эти практические препятствия для капиллярных колонок в ВЭЖХ, если только не учитывать работу колонки диаметром 5-10 мм при очень высоких давлениях [27, 28].

#### 1.1.4 Влияние температуры на эффективность упакованной колонки

Приведенная высота, эквивалентная теоретической тарелке ( $h = \frac{H}{d_p}$ ), может быть выражена уравнением Нокса [29]:

$$h = Av^{1/3} + \frac{B}{v} + Cv, \quad (1.7)$$

где приведенная скорость потока подвижной фазы:

$$v = \frac{\mu d_p}{D_m}, \quad (1.8)$$

$D_m$  – коэффициент диффузии адсорбата в подвижной фазе,  $d_p$  – диаметр частиц,  $\mu$  – безразмерный параметр, связанный с нерегулярностью набивки.

Повышение температуры приводит к увеличению вихревой диффузии в ламинарном потоке, однако эффект температуры на первое слагаемое в вышеописанном уравнении является незначительным [29]. Продольная же диффузия увеличивается с повышением температуры, это приводит к значительному снижению скорости потока. Третье слагаемое, содержащее внутри-внешидиффузионный массоперенос и кинетику адсорбции-десорбции, будет уменьшаться при повышении температуры. Также параметры А, В и С зависят от коэффициента распределения  $k$ . Параметр А, который является мерой того, насколько хорошо упакована колонка, обычно не сильно влияет на эффективность. Коэффициент В отражает геометрию элюента в колонке, а коэффициент С отражает эффективность массопереноса между подвижной и стационарной фазами [29].

Таким образом, в целом, повышенная температура благоприятно влияет на эффективность колонки. Практически нет исключений из этого утверждения, например, когда ухудшается удерживание аналитов и учитывается мертвый объем, или когда высокая продольная диффузия в сочетании с низкой линейной скоростью потока очень сильно увеличивает параметр В [30].

Зависимость между температурой и эффективностью колонки (ЧТТ) неоднозначная [31, 32]. Как правило, максимальная эффективность колонки наблюдается в диапазоне от 100 до 120 °С с небольшим увеличением при более низких температурах и более четким снижением при повышенных температурах. Это обусловлено двумя конкурирующими факторами (2-е и 3-е слагаемые уравнения Ван-Деемтера). Постепенный рост температуры приводит к большему уменьшению сопротивления массопередачи (параметр С, 3-е слагаемое) по отношению к увеличению продольной диффузии (параметр В, 2-е слагаемое). При температуре выше, чем 100-120 °С, параметр В должен преобладать над параметром С. Однако, в исследованиях Смита и Берджеса [33] не получено особых различий в эффективности разделения фенола и м-крезола на колонке с ПС-ДВБ (полистирол-дивинил бензол) при 150-180 °С.

## 1.2 Программирование температуры и изотермическое разделение

В настоящее время не многие жидкостные хроматографы оснащены программируемой печкой, но с микроколонками или заполненными капиллярными колонками температурные изменения могут быть выполнены почти так же, как в газовой хроматографии. В основном используются колонки стандартного размера (4.6 mm), в которых создается градиент температур. Необходимо, чтобы растворитель и колонка были одинаковой температуры. Если поступающий растворитель холоднее, чем стенки колонки, то флюид в центре колонки будет холоднее, чем флюид у стенок, в результате чего будет наблюдаться уширение пиков [34]. При использовании стандартных колонок, Wolcott и другие ученые предположили, что разность температур между поступающей подвижной фазой и колонкой должна быть меньше 7 °С, чтобы избежать уширения полос. Тем не менее, проблема уширения пика связана не только с разностью температур между поступающим растворителем и колонкой, но и с диаметром колонки. Применение узких колонок значительно снижает разность тепловых эффектов и тем самым, ими можно пренебречь, за счет быстрого переноса тепла. В литературе [35], ученые Томсон и Карр рекомендуют использовать колонку 2 mm, для сокращения различий между удерживанием и мертвым объемом.

Другой функцией узких колонок является фокусировка (концентрирование), которая может быть получена при низкой температуре на входе колонки [17, 36]. В источнике [17] представлена современная концепция использования колонок с печкой и встроенным холодным участком, позволяющим увеличить объемы образцов на коэффициент 10000 по температуре растворенного вещества на насадочной капиллярной колонке. Холодная зона состоит из алюминиевого блока 1,5 см, установленного на элементе Пельтье, в то время как горячая зона, с программированной температурой состоит из 0,5 мм керамической трубки, окруженной металлическим проводом сопротивления, соединенный с ПК. Печь была разработана для горизонтального скольжения капиллярной колонки внутри корпуса термостата, что обеспечивает быструю транспортировку в колонку между двумя интервалами температур. Такая конструкция исключает процесс повторного охлаждения печи после длительного температурного градиента.

Быстрое увеличение до температуры элюирования требует низкой тепловой массы. Следовательно, единственное разумное, что нужно делать с программированием температуры является использование колонок с узкими отверстиями. Повторяемость удерживания с использованием программированной температуры составляет 0.3-1.1% при заданной температуре 10-90 °C и 2% при 40-110 °C. Изотермическое разделение оказалось выигрышным с использованием колонок с узкими отверстиями, из-за гораздо меньшего времени установления равновесия при изменении температуры.

На рис. 1.4 продемонстрированы особые преимущества программирования температуры (градиента) при разделении гомологов [17], а также относительно крупных соединений.

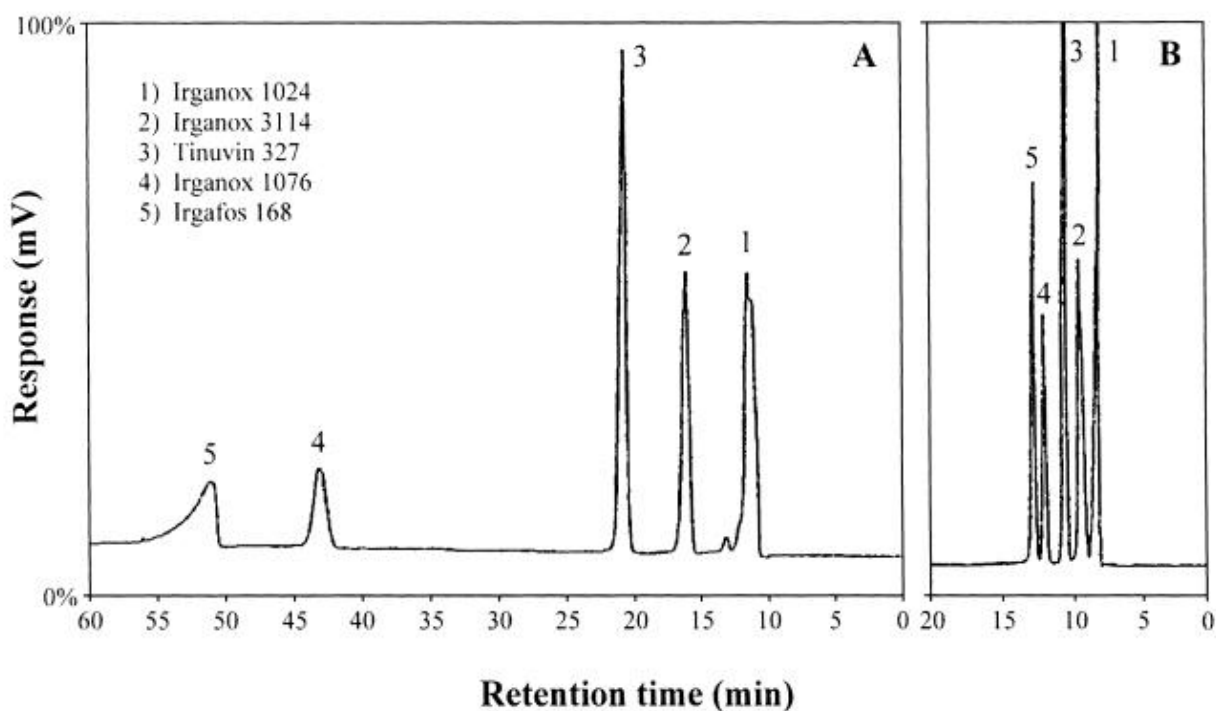


Рисунок 1.4 Разделение полимерных добавок путем изотермического элюирования при 50 °C (A) и температурным программированием от 50 до 150 °C (B). Колонка d=3мм Hypersil ODS, 100 Å, 0,32 мм I.D. ×69 см. Подвижная фаза, DMF-ацетонитрил (10:90, объем / объем), 5 мл / мин. УФ-детектирование при 280 нм.

### 1.3 Разделение в очень горячей воде

Особый случай высокотемпературной жидкостной хроматографии – это хроматография в очень горячей воде [37]. При повышении температуры от 25 °С до 200 °С диэлектрическая постоянная воды уменьшается от 80 до 35, органические растворители при повышенных температурах уступают горячей воде по своим характеристикам. Это позволяет использовать пламенно-ионизационный детектор и предполагает полностью «зеленую» ЖХ для растворителей и стационарной фазы, которые устойчивы в горячей воде. При высоких температурах стационарные фазы на основе кремния быстро портятся, однако в докладе [38] доказали, что колонка Hypersil ODS устойчива в течение нескольких недель при температуре выше 175 °С. Стирол-дивинил бензольный полимер устойчив при температуре выше 225 °С. Также есть и другие устойчивые колонки, на основе углерода, циркония и других оксидов металлов. Доказана устойчивость в воде с температурой свыше 200 °С полибутадиена с циркониевым покрытием, хотя недавние эксперименты температурного программирования от 50-150 °С в водно-фосфатном растворителе показали низкую эффективность колонки и слабое удерживание аналитов.

Очевидно, что потребность в органических растворителях не исчезнет в ближайшем будущем, поскольку вода даже при температурах близких к 175-200 °С является относительно слабым элюентом.

### 1.4 Разделение в неводных системах

Неводные системы имеют преимущества использования в ЖХ при высоких температурах из-за меньшей вероятности гидролиза стационарной фазы. Стационарная фаза может быть ОФ или полярным сорбентом для растворителей с маленькой растворимостью в водных системах. Взаимодействия могут быть Ван-дер Ваальсовы (на обращенно-фазовой колонке) или полярного типа (на нормально-фазовой колонке), или же вообще может не возникать взаимодействий при высоких температурах, как в эксклюзионной хроматографии.

Существует еще так называемая субкритическая водная хроматография. Субкритической водой называется такая вода, которая нагревается под давлением в



условиях, ниже критической точки, то есть ниже 374 °C и 218 атм. Как видно из рис. 1.5, в субкритической водной хроматографии увеличение температуры от 25 до 250 °C приводит к изменению полярности, поверхностного натяжения и вязкости водного растворителя аналогичным образом, что и при обычном смешивании метанола с водой, как это делается в обычной высокотемпературной жидкостной хроматографии.

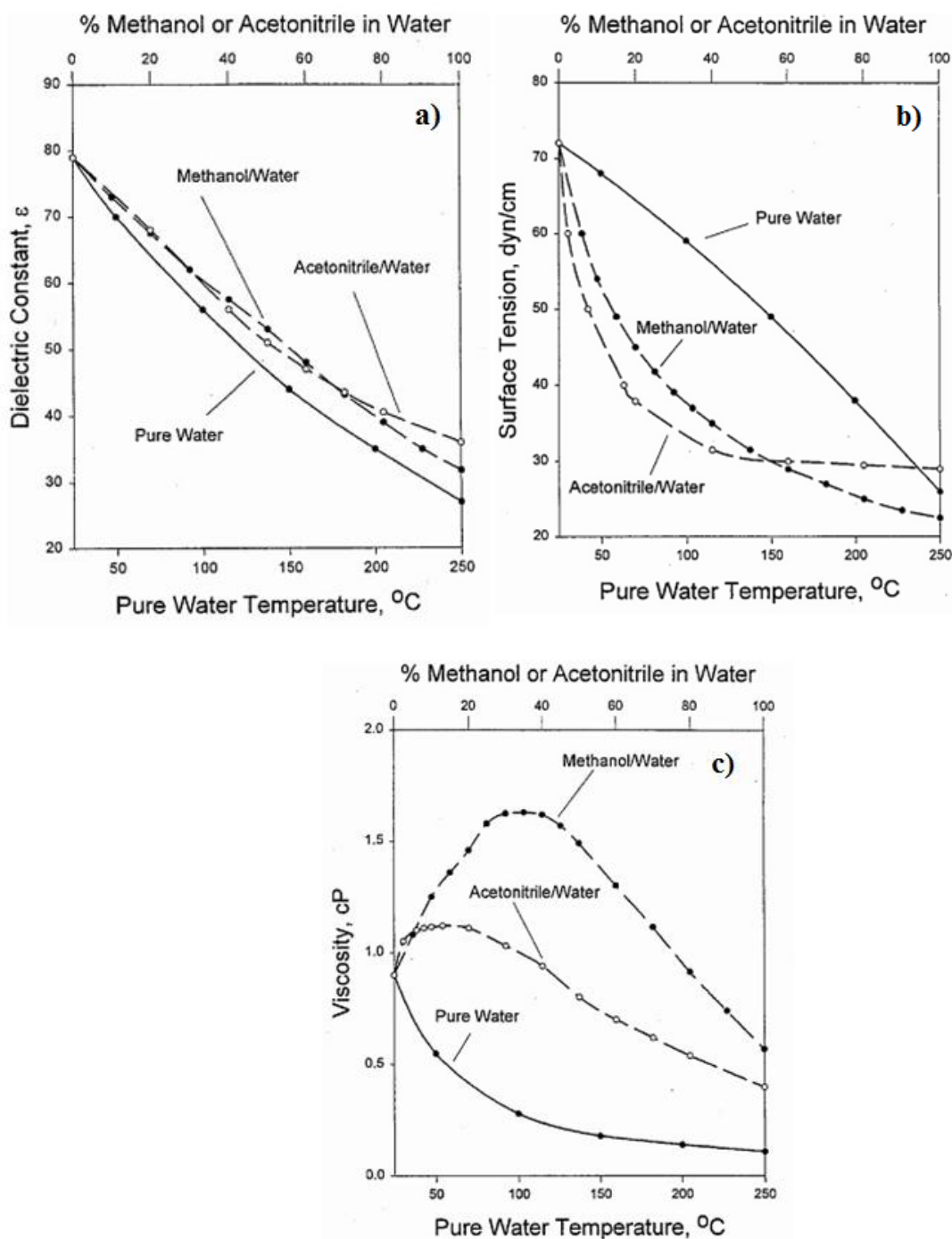


Рисунок 1.5. Изменение диэлектрической постоянной (а), поверхностного натяжения (б), и вязкости (с) растворителя путем изменения температуры чистой воды при 50 атм по сравнению со смесью воды с метанолом или ацетонитрилом при 258 °C [4].

### 1.5 Практическое значение высокотемпературной жидкостной хроматографии

При высоких температурах, выше температуры кипения подвижной фазы или близкой к ней, необходим регулятор обратного давления, чтобы избежать кипения внутри колонки. Для колонок маленького размера это могут быть винтили на манометре. Для колонок с микродиаметром - это простая выходная трубка с узкими отверстиями. Также всегда необходимо учитывать устойчивость стационарной фазы. При постоянной температуре, выше 100 °С, в водных элюентах обычно используют кремний-основные C18 стационарные фазы, но они быстро портятся с течением времени. При температуре ниже 70 °С большинство обращенных фаз не подвергаются коррозии, в то же время некоторые сорбенты могут использоваться без проблем и при 90 °С. Чтобы использовать высокие температуры, аналиты должны быть термически стабильными во время хроматографирования. Однако при быстром анализе и коротком времени можно проанализировать относительно нестабильные соединения и сложные молекулы с помощью ВТЖХ [39].

### 1.6 Наличие стационарной газовой фазы в порах сорбента

В конце XX века советскими учеными [40, 41] было доказано наличие газовой фазы, присутствующей в порах сорбента при пропускании через него водной фазы (рис.1.6). В процессе поиска методов анализа газов, растворенных в воде, был замечен необычный эффект: при пропускании воды, насыщенной растворенными газами, через слой пористого политетрафторэтилена (ПТФЭ), предварительно продутого газом-носителем, в первых порциях фильтрата, значительно превосходящих свободный объем колонки, не обнаруживались исходные газообразные примеси. Для подтверждения гипотезы о том, что удерживание аналитов осуществляется за счет распределения между подвижной водной фазой и газом, присутствующим в порах носителя, были определены объемы удерживания на колонке с ПТФЭ нескольких газов, существенно различающихся по растворимости в воде при различных температурах. Отмечено, что объем удерживания тем меньше, чем больше растворимость газа в воде, что говорит о жидкостно-жидкостном механизме удерживания растворенных в воде газов на колонках с гидрофобными

пористыми сорбентами [42, 43]. Модельная схема хроматографической системы жидкостно-газовой хроматографии представлена на рис. 1.6.

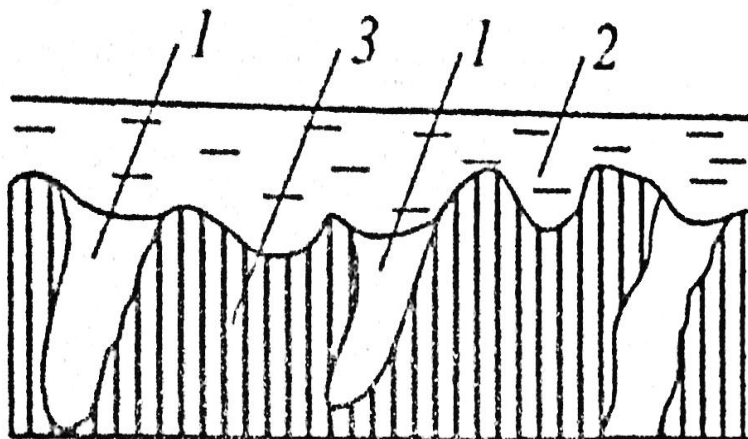


Рисунок 1.6 Модельная схема хроматографической системы. 1 – стационарная газовая фаза; 2 – подвижная жидкая фаза; 3 – твердый носитель.

Принципиальная возможность такого процесса закономерно следует из известного факта возникновения в порах гидрофобных не смачиваемых водой материалов капиллярного давления, препятствующего заполнению их водой. Величина капиллярного давления определяется выражением [44]:

$$P_c = |2\sigma\cos\theta|/r \quad (1.9),$$

где  $\sigma$  – поверхностное натяжение жидкости на границе с газом, Н/м (Дж/м<sup>2</sup>);  $\theta$  – краевой угол смачивания твердого тела;  $r$  – радиус пор, м.

Необходимое для стабильного процесса ЖГХ условие несмачиваемости твердого носителя жидкостью можно выразить с помощью неравенства [45]:

$$\sigma > 2\sigma_k \quad (1.10),$$

где  $\sigma_k$  – критическое поверхностное натяжение твердого носителя. Сопоставление литературных данных [45] по величинам  $\sigma$  и  $\sigma_k$  показывает, что данное условие выполняется для жидкостей, имеющих относительно высокое поверхностное натяжение и, прежде всего, для воды и водных растворов. Таким образом, о методе жидкостно-газовой хроматографии можно говорить, только если разделяют легкие неорганические газы на носителях с относительно небольшой поверхностью, таких как пористый ПТФЭ. Во всех остальных случаях рассматриваемый метод должен быть классифицирован как жидкостно-газотвердофазная хроматография [46].

Анализ, проведенный на основании аддитивной теории удерживания, показал, что основной вклад в удерживание ЛОВ на несмачиваемых сорбентах (неполярные полисорбы, порапаки, хромосорбы серии 100) вносит перераспределение молекул ЛОВ между подвижной жидкой фазой и стационарной газовой фазой и их последующая адсорбция на межфазной границе газ-твердое тело [40]. Стационарная газовая фаза неизбежно занимает микро- и мезопоры, обладающие адсорбционным потенциалом несмачиваемых сорбентов. В этом случае, для ЛОВ с температурой кипения - выше 250 К, удерживание зависит от произведения константы распределения на константу адсорбции [41]:

$$V'_R = K_p K_a m, \quad (1.11)$$

где  $V'_R$  – приведенный объем удерживания компонента,  $\text{см}^3$ ;  $K_p$  – константа распределения компонента между стационарной газовой фазой и подвижной жидкой фазой;  $K_a$  – константа адсорбции на межфазной границе стационарная газовая фаза – твердый носитель,  $\text{см}^3/\text{г}$ ;  $m$  – масса сорбента, г. В рамках модели жидкостно-газоадсорбционной хроматографии, как видно из выражения (1.11), становится неоднозначным влияние температуры на параметры удерживания ЛОВ, поскольку с повышением температуры одновременно происходит увеличение константы распределения и уменьшение константы адсорбции [41]. Установлено, что для полярных ЛОВ наблюдается значимое увеличение параметров удерживания с повышением температуры от 20 до 30-40 °С. Этот эффект удовлетворительно объясняется исходя из известного уравнения, связывающего константу адсорбции с теплотой адсорбции [44]:

$$K_a = q \exp(Q_a / RT) \quad (1.12),$$

где  $q$  – энтропийный множитель;  $T$  – абсолютная температура, К;  $Q_a$  – начальная дифференциальная молярная теплота адсорбции ЛОВ из газовой фазы, насыщенной водяным паром при данной температуре, Дж/моль;  $R$  – универсальная газовая постоянная, Дж/(моль\* К). Для узкого температурного интервала можно принять допущение о независимости  $Q_a$  и энтропии адсорбции от температуры. Выявленный эффект возрастания параметров удерживания с учетом значительного увеличения скорости массообмена с повышением температуры может быть использован для повышения эффективности концентрирования ЛОВ из водных растворов [47].

Относительно недавно японские исследователи [48] подтвердили теорию существования стационарной газовой фазы в порах несмачиваемых сорбентов.

Пористый гидрофобный сорбент, содержащий в своих порах газовую фазу, рассматривается как гибридная среда для разделения аналитов. Такая среда состоит из межфазных границ воды, гидрофобной части (привитые алкильные группы) и газа. Поэтому, если в каждой части гибридной среды независимо удерживается аналит, то объем удерживания вещества на колонке, заполненной пористым силикагелем с привитыми алкильными группами, будет выражено следующим уравнением:

$$V_R^S = V_{BW}^S + D_{C18} * V_{C18} + D_{IW(G)} * V_{IW(G)} + D_{IW(C18)} * V_{IW(C18)}^S \quad (1.13)$$

где  $V_{BW}^S$ ,  $V_G$ ,  $V_{C18}$  и  $V_{IW(C18)}^S$  – объемы водной, газовой фазы и слоя с привитыми алкильными группами, и объем межфазной границы на поверхности воды, газа и слоя с привитыми алкильными группами в колонке;  $D$  – коэффициент распределения веществ между объемом воды и соответствующими областями гибридной среды для разделения;  $V_R^S$ ,  $V_{BW}^S$ ,  $V_{IW(C18)}^S$  – объемы для колонки, содержащей фиксированную газовую фазу. Уравнение (1.13) справедливо, только если привитый слой алкильной группы при контакте с водой имеет такую же структуру, как тот, что находится в контакте с газовой фазой. Альбер и соавторы с помощью метода  $C^{13}$  ЯМР показали, что полярные растворители, такие как метанол, незначительно изменяют структуру алкильных цепей, связанных с поверхностью силикагеля и порядок цепей сохраняется, в то время как в неполярных растворителях, таких как метил третбутиловый эфир, алкильные цепи обладают большей подвижностью. Таким образом, можно ожидать, что структура слоя привитых алкильных цепей не подвергается воздействию воды [48].

Уравнение (1.13) показывает, что селективность удерживания зависит не только от коэффициента распределения веществ между объемом воды и каждой фазой гибридной среды, но также и от объемов данных фаз. Среди объемов жидкой и газовой фаз в колонке, объем водной части можно определить с помощью жидкостной хроматографии с использованием неорганических ионов малого размера, например  $KNO_3$ .

На основании изложенного материала можно предположить, что на закономерности ОФ ВЭЖХ должны влиять следующие физико-химические

характеристики органических растворителей, используемых в качестве добавки в элюент.

Таблица 1. Физико-химические характеристики органических растворителей, используемых в качестве органических модификаторов в элюенте [49].

Вещество	$\beta$ , мДж/м <sup>2</sup>	Вязкость, 20 °С, сП	Растворимость в воде (в %) при 20 °С	Элюирующая сила на Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Граница светопропускания в УФ- области, нм
метанол	22,6 <sup>20</sup>	0,95	∞	0,95	210
ацетонитрил	28,1 <sup>20</sup>	0,37	∞	0,65	210
Изопропиловый спирт	21,7 <sup>20</sup>	2,4	∞	0,82	
1,4-диоксан	32,9 <sup>25</sup>	1,54	∞	0,56	220
нитрометан	36,8 <sup>20</sup>	0,66	10	0,64	380

### 1.7 Вывод к главе 1

Как показал анализ литературных данных, закономерности ОФ ВЭЖХ изучены далеко не в полной мере. В связи с интенсивным развитием ВЭЖХ при повышенных температурах, когда резко уменьшается содержание органических компонентов в элюенте, особое значение может оказывать присутствие стационарной газовой фазы в порах гидрофобных сорбентов типа октадецилсиликагеля. Выяснение этого вопроса – цель настоящей работы.

Таким образом, на величину объема газовой фазы будет влиять: температура, содержание органических модификаторов в элюенте и давление в системе. Возможное негативное влияние от повышения температуры должно проявляться, прежде всего, в случае летучих аналитов со значимой концентрацией молекул в газовой фазе.

## 2. Экспериментальная часть

### 2.1 Применяемая аппаратура и реактивы

ВЭЖХ анализ проводился с помощью жидкостного хроматографа Shimadzu серии LC-20 Prominence со спектрофотометрическим детектором. Детектирование ароматических углеводов и фенолов проводили при длине волны 260 нм, других тестовых веществ и нитрата калия 215 нм. Температуру в термостате колонок варьировали от 30 до 85 °С, расход элюента от 0,3 до 2 мл/мин. В работе использовали типичные для ОФ ВЭЖХ силикагели C<sub>18</sub>. Колонка 1 (20 × 4 мм), заполненная сорбентом Pelliguard (размер частиц – 5 мкм), и колонка 2 (250 × 4.6 мм) с сорбентом Discovery (размер частиц – 5 мкм).

Таблица 2.1 Средства измерения и их характеристики.

Средство измерения	Характеристика средства измерения	Показатель точности средства измерения
Спектрофотометр Shimadzu UV-1240	Диапазон измерения оптической плотности 190-400 нм.	Предел допускаемой абсолютной погрешности измерения оптической плотности $\pm 0.001$
Микрошприц Hamilton	Максимальный объем шприца- 100 мкл.	Предел допускаемой абсолютной погрешности измерения объема 1 мкл
Шприц Hamilton	Максимальный объем шприца- 1 мл	Предел допускаемой абсолютной погрешности измерения объема 0.01 мл
Цилиндр мерный	Измерение объема раствора в диапазоне 0-20 мл.	Предел допускаемой абсолютной погрешности измерения объема 0.1 мл
Весы лабораторные ВЛ-210	Наибольший предел взвешивания 210 г. Наименьший предел взвешивания 10 мг.	Погрешность взвешивания: до 50 г $\pm 0.5$ мг, от 50 до 200 г $\pm 0.7$ мг, от 200 до 210 $\pm 0.7$ мг.

Таблица 2.2 Вспомогательное оборудование

Вспомогательное оборудование	Краткая характеристика вспомогательного оборудования
Поточный дегазатор DGU-20A	Максимальная мощность расхода- 20 мл/мин. Внутренняя емкость- 380 мкл на поточной линии.
Модуль смешения растворителей (насос) LC-20AB,	Поток 0,0001 - 10 мл/мин, смешивание 2-х растворителей в градиентном режиме, диапазон объема пробы 0.1-20 мкл.
Колоночный термостат СТО-20А	Диапазон температуры: 4-85 °С.
Спектрофотометрический детектор SPD-20 AV	Диапазон длин волн: 190-370 нм (D2 лампа), 371-900 (W лампа).
Мембранный фильтр	Размер пор – 0,2 мкм

## Реактивы и материалы:

- Ацетон ЧДА ГОСТ 2603- 79 ОКП 263321 0042 08.
- Ацетонитрил ОСЧ-1 ТУ 6-09-14- 21- 67 -84.
- Диметилформамид (ДМФА) ОСЧ 13-4 ОП-2ОСТ 2636-006-11291058- 94.
- Этанол ГОСТ 18300-72
- Изопропанол хч ТУ 2632-015-11291058-95
- Ацетилен ГОСТ 5457-75

Точность измерений. Разница между измеренным и истинным значением объема элюента ограничена точностью измерений скорости потока, подаваемой насосной системой ВЭЖХ ( $\pm 0,4$  % для нашей аппаратуры), и объема колонки. Объем колонки рассчитывается по формуле:

$$V_k = 3,14R^2l \quad (2.1)$$

## 2.3 Методика приготовления модельных растворов

Модельный раствор нитрата калия готовили объёмно-весовым способом. Навеску кристаллического вещества 0,1 г вносили в мерную колбу и разбавляли до метки дистиллированной водой. Далее, приготовленные подобным образом растворы, разбавлялись дистиллированной водой (конечная концентрация  $c = 10$  мг/л). Растворы



толуола, нитробензола и бензола готовили методом последовательного разбавления чистых веществ для хроматографии сначала в метаноле, а затем в дистиллированной воде (конечная концентрация  $c = 30$  мг/л). Модельные растворы фенола, м-крезола, ацетона и диметилформамида готовили путем непосредственного растворения в дистилляте. Водный раствор ацетилена (1 г/л) получали путем насыщения дистиллированной воды газообразным ацетиленом из баллона.

## 2.4 Обработка экспериментальных данных

Обработку результатов измерений, включая определение времени, объема аналитов и полуширину пиков осуществляли с помощью штатной программы LCsolution, выполняя не менее трех параллельных измерений. Математическую обработку результатов проводили в соответствии с общепринятыми правилами [50, 51]. Погрешность результатов измерения  $\Delta$  рассчитывали исходя из условия незначимости систематической погрешности и принимали ее равной случайной погрешности ( $\varepsilon$ ) при доверительной вероятности  $p = 0.95$ .

$$\Delta = \varepsilon \quad (2.2).$$

Случайную составляющую погрешности результата измерений оценивали по формуле:

$$\varepsilon_x = \pm \frac{t(p, n)S_x}{\sqrt{n}} \quad (2.3),$$

где  $t_{p, n-1}$  – табличное значение коэффициента Стьюдента для доверительной вероятности  $p=0.95$  и числа измерений  $n$ ;  $S_x$  – среднеквадратичное отклонение измеренной величины в серии измерений. Как правило, выполнялись три параллельных определения ( $t = 4,3$ ).

Воспроизводимость результатов анализа оценивали, выполнив независимую серию измерений и рассчитав величину стандартного отклонения. Стандартное отклонение  $S_x$  (мера разброса значений измеряемой величины относительно среднего) рассчитывали по формуле[50,51]:

$$S_x = \sqrt{\frac{(X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \quad (2.4),$$

где  $X_i$  – результаты измерений;  $\bar{X}$  – среднее арифметическое значение результатов измерений;  $n$  – число измерений.

Параметры хроматографического процесса, такие как ВЭТТ, коэффициент селективности, степень разделения, коэффициент быстродействия хроматографической колонки рассчитывали по формулам, описанным ниже.

1. Высота, эквивалентная теоретической тарелке (ВЭТТ):

$$H = L/N \quad (2.5)$$

где  $L$  – длина колонки,  $N$  – число теоретических тарелок.

$$N = \left( \frac{V_R}{\mu_{0,5}} \right)^2 5,54 \quad (2.6),$$

где  $V_R$  – объем удерживания анализа,  $\mu_{0,5}$  – полуширина пика.

2. Коэффициент селективности:  $\alpha = \frac{V'_{R2}}{V'_{R1}}, \quad (2.7),$

где  $V'_R$  – приведенный объем, то есть объем удерживания компонента за вычетом мертвого объема.

$$V'_R = V_R - V_0 \quad (2.8).$$

3. Степень разделения:  $R = \frac{V_{R2} - V_{R1}}{\mu_{0,5(1)} + \mu_{0,5(2)}} \quad (2.9),$

где  $\mu_{0,5}$  – полуширина пика.

4. Коэффициент быстродействия хроматографической колонки:

$$\lambda = \frac{R}{t_{ан}} \quad (2.10).$$

где  $t_{ан}$  – время анализа.

В качестве тестовых веществ использовали летучие органические вещества, обладающие различной летучестью, растворимостью в воде и коэффициентом распределения между жидкой и газовой фазой (таб. 2.3).

Таблица 2.3 Физико-химические характеристики тестовых веществ [52]

Вещество	Температура кипения, °С	Растворимость в воде, г/л	$K$ , 20 °С
Ацетилен	-84	1,15	1,11 [53]
Ацетон	56	$\infty$	750 [54]
Бензол	80	1,8	4,8 [54]
Толуол	111	0,5	4,6 [54]
N,N' – Диметилформамид (ДМФА)	153	$\infty$	–
Фенол	182	82	9870 (50°C) [10]
М-Крезол	203	24	7280 (50 °С) [55]
Нитробензол	211	2.1	7200

### 3. Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что при относительно высоких расходах элюента (рис. 3.1) повышение температуры до 80 °С приводит к двукратному увеличению эффективности массообмена (уменьшению ВЭТТ) независимо от летучести аналитов.

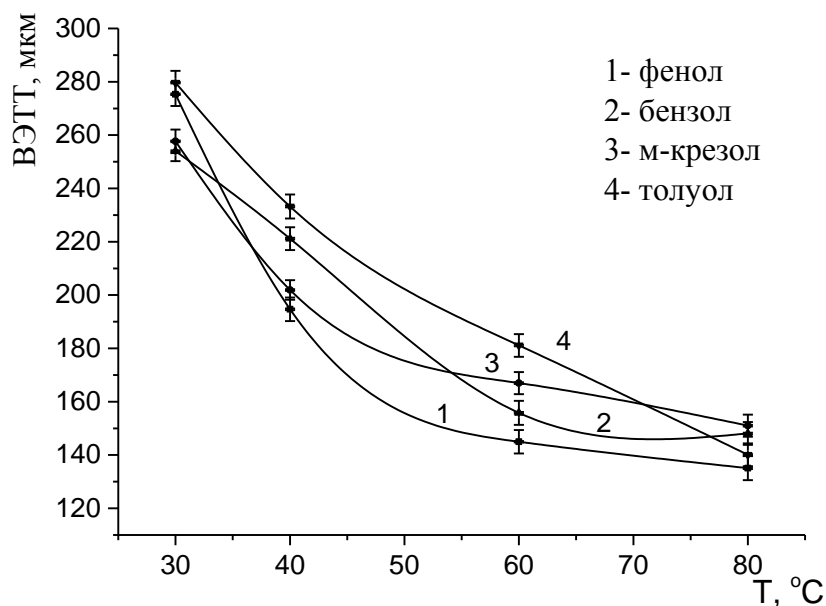


Рисунок 3.1 Зависимость ВЭТТ различных от температуры. Предколонка Peliguard (20×4 мм), расход элюента (20 % об. ацетонитрила в воде) 2 мл/мин. 1 – фенол; 2 – бензол; 3 – м- крезол, 4 – толуол.

Проведенное исследование влияния скорости элюента на ВЭТТ при различных температурах (рис.3.2) показало, что при невысоких скоростях элюента и при повышенной температуре (80 °С) начинает проявляться негативное влияние продольной диффузии на размытие зон разделяемых компонентов. При этом, летучесть аналитов не имеет решающего значения.

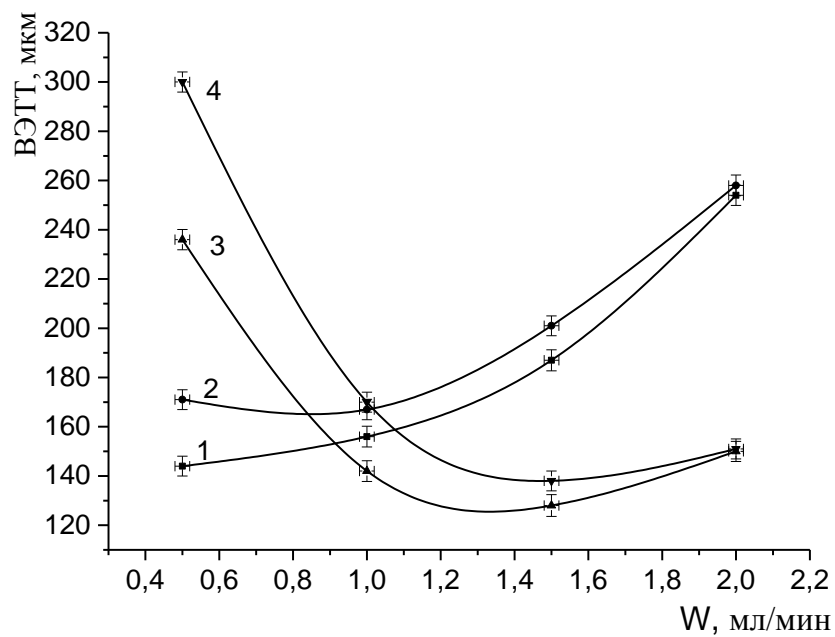


Рисунок 3.2 Зависимость ВЭГТ от объемной скорости элюента при различных температурах. Концентрация ацетонитрила – 15 %. Предколонка. 1,2 – 30 °C; 3,4 – 80 °C.

Эффект влияния продольной диффузии на размытие зон разделяемых аналитов не проявляется при низкой температуре (30 °C, рис. 3.3).

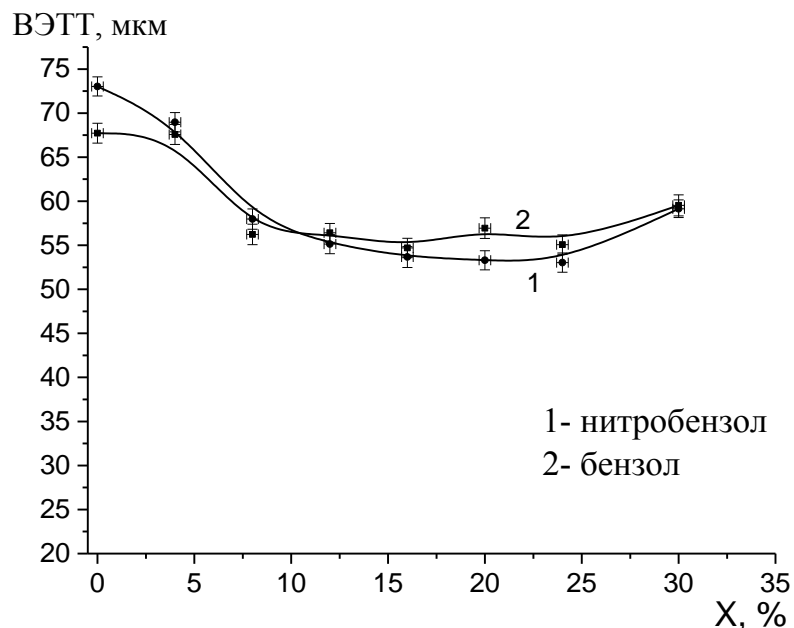


Рисунок 3.3 Зависимость ВЭТТ от содержания ацетонитрила в элюенте для ароматических углеводородов с различной летучестью. Предколонка. Температура – 30 °С. 1 – бензол, 2 – нитробензол

Однако подобное отсутствие влияния летучести аналитов на ВЭТТ имеет место при достаточно высоких концентрациях ацетонитрила (20 % и выше), обеспечивающих смачиваемость силикагеля  $C_{18}$ . При более низких концентрациях ацетонитрила, когда возможно существование стационарной газовой фазы в порах сорбента, зона более летучего бензола размывается гораздо сильнее, чем нитробензола (рис. 3.4). Это может служить косвенным доказательством существования СГФ при этих условиях.

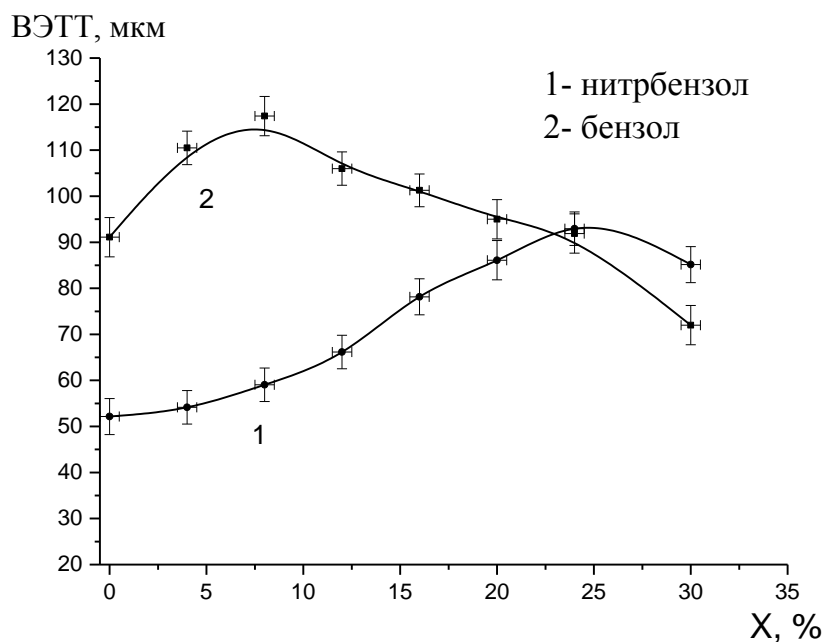


Рисунок 3.4 Зависимость ВЭТТ от содержания ацетонитрила в элюенте для ароматических углеводородов с различной летучестью. Предколонка. Температура – 80 °С. 1 – нитробензол, 2 – бензол

Также проведено исследование влияния температуры на хроматографические характеристики, такие как коэффициент селективности, степень разделения и коэффициент бысродействия. С увеличением температуры и доли ацетонитрила (рис. 3.5, 3.6) изопропилового спирта (рис. 3.7) в элюенте селективность ухудшается, что хорошо согласуется с общепринятыми закономерностями.

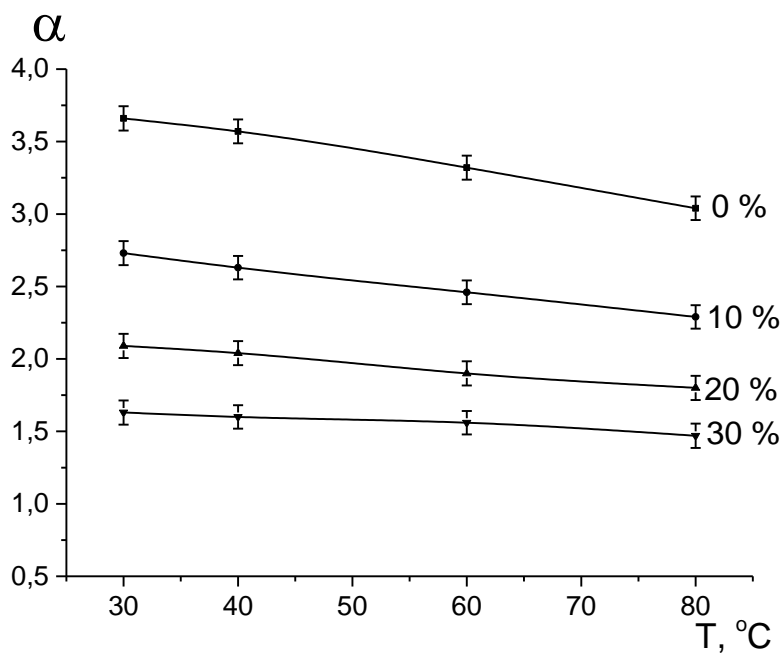


Рисунок 3.5 Влияние температуры на селективность при разделении малолетучих веществ (фенол – м-крезол) при различном содержании ацетонитрила в элюенте.

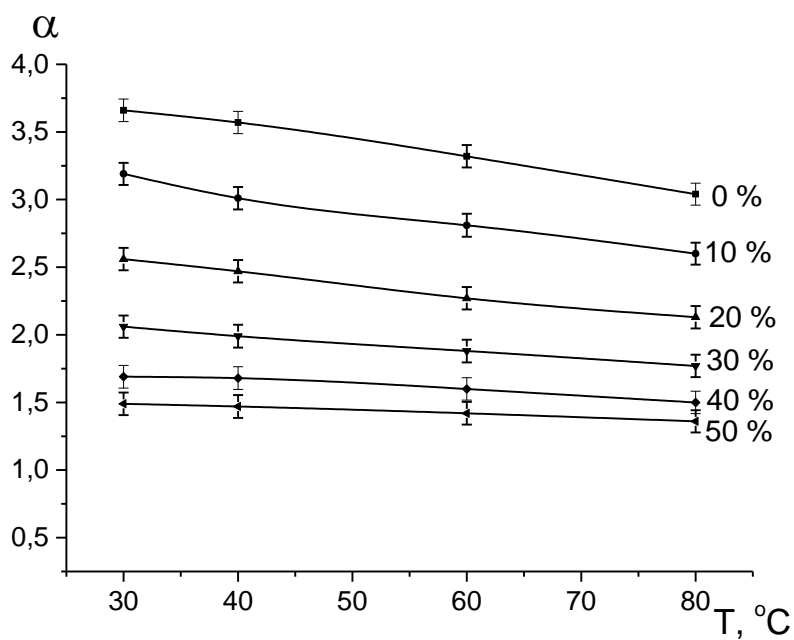


Рисунок 3.6 Влияние температуры на селективность для легколетучих веществ (бензол – толуол) при различном содержании ацетонитрила в элюенте.

В случае, когда в качестве органической добавки использовали изопропиловый спирт, повышение температуры до 80 °C и увеличение концентрации ИС в элюенте до 30 % привело к тому, что аналиты (фенол, м-крезол) не разделились.



Соответственно, расчет коэффициента селективности через приведенное время не представился возможным, поэтому на рис. 3.7 кривая (30 %) имеет всего три точки.

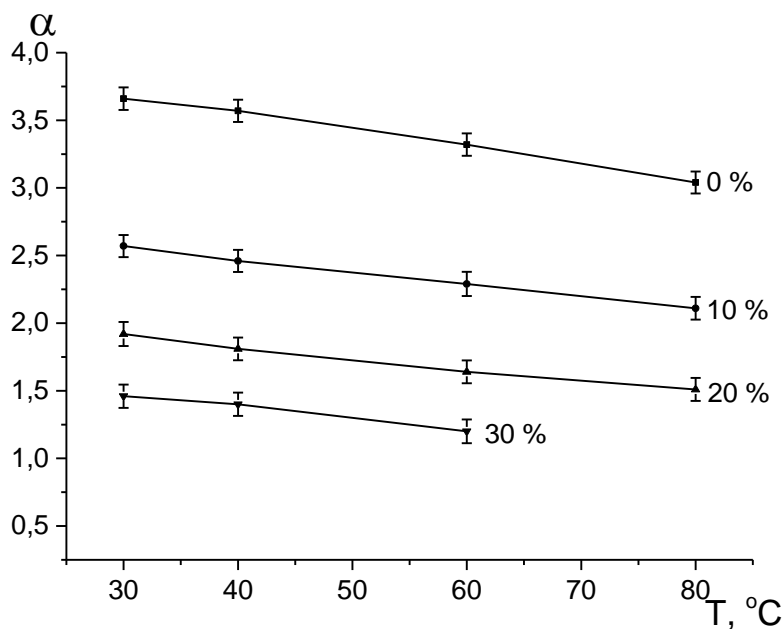


Рисунок 3.7 Влияние температуры на селективность при разделении малолетучих веществ (фенол – м-крезол) при различном содержании изопропилового спирта в элюенте. 1- 30 % ИС, 2 – 20 % ИС, 3 – 10 % ИС.

Аналогичный эффект наблюдается и для степени разделения (рис. 3.8, 3.9, 3.10).

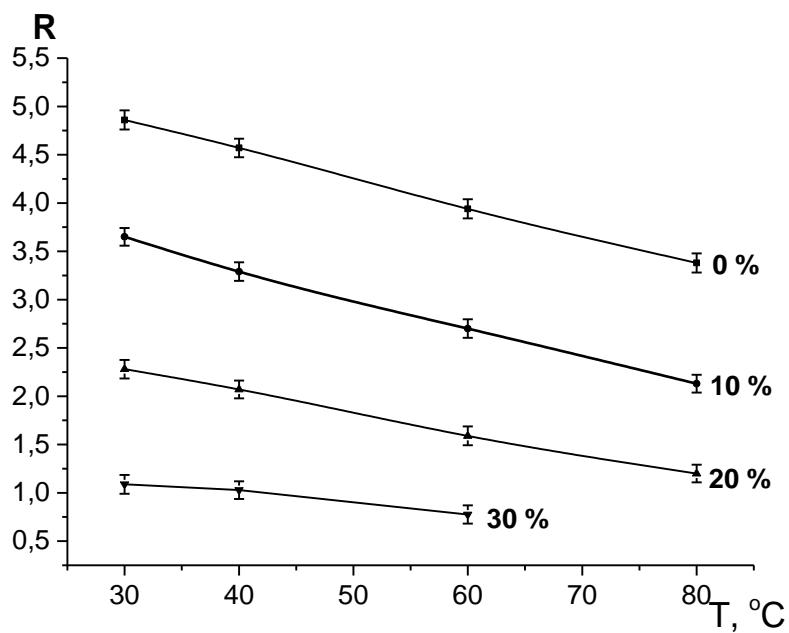


Рисунок 3.8 Влияние температуры на степень разделения малолетучих веществ (фенол – м-крезол) при различном содержании ацетонитрила в элюенте. 1- 30 % ацетонитрила, 2 – 20 % ацетонитрила, 3 – 10 % ацетонитрила, 4 – 0 ацетонитрила %.

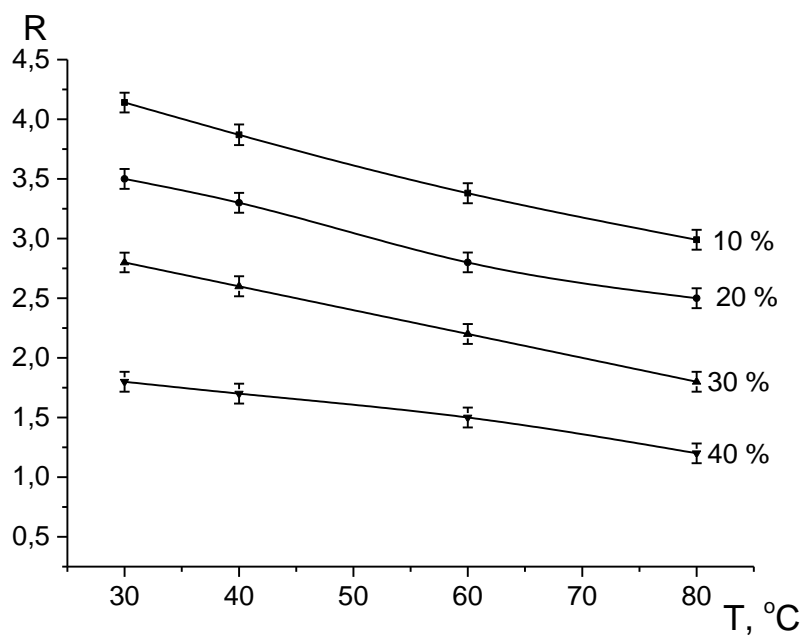


Рисунок 3.9 Влияние температуры на степень разделения легколетучих веществ (бензол – толуол) при различном содержании ацетонитрила в элюенте.

При температуре 80 °С и содержании ацетонитрила - 30 % в элюенте (рис. 3.9) и при температуре 60 °С, 80 °С и содержании пропанола-2 – 30 % в элюенте (рис. 3.10), аналиты (фенол, м-крезол) имеют плохое разделение, то есть расчет полуширины пика и степени разделения не представился возможным, поэтому на графиках кривые (1) имеются всего три и две точки, соответственно.

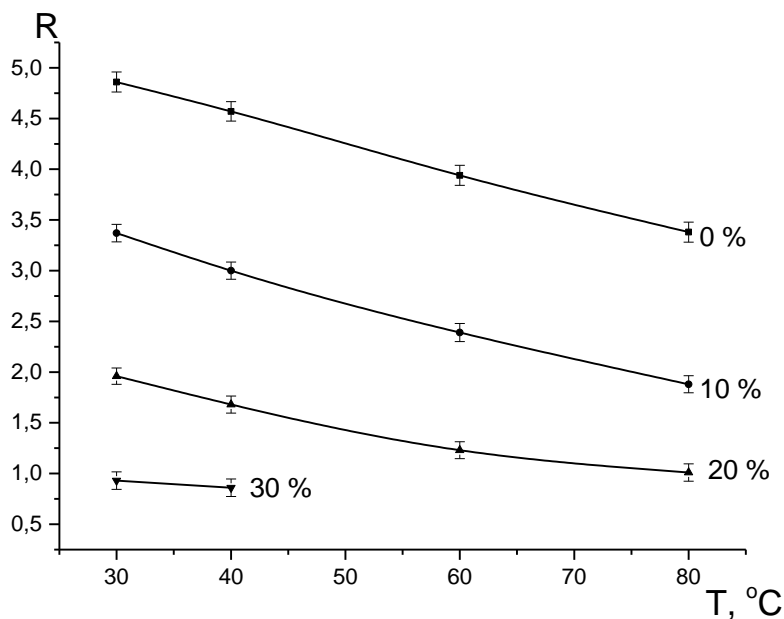


Рисунок 3.10 Влияние температуры на степень разделения малолетучих веществ (фенол – м-крезол) при различном содержании изопропилового спирта в элюенте. 1- 30 % ИС, 2 – 20 % ИС, 3 – 10 % ИС, 4 – 0 % ИС.

Совершенно другое влияние оказывает температура на быстроедействие хроматографической колонки. Как для разделения малолетучих аналитов, так и для летучих аналитов наблюдается максимум, который по мере увеличения температуры сдвигается в область меньших концентраций ацетонитрила (рис. 3.11, 3.12). То есть, чем выше температура, тем меньше оптимальное содержание ацетонитрила. Аналогичные зависимости с максимумами получены в случае изопропилового спирта (рис. 3.13), что говорит об общности выявленной закономерности.

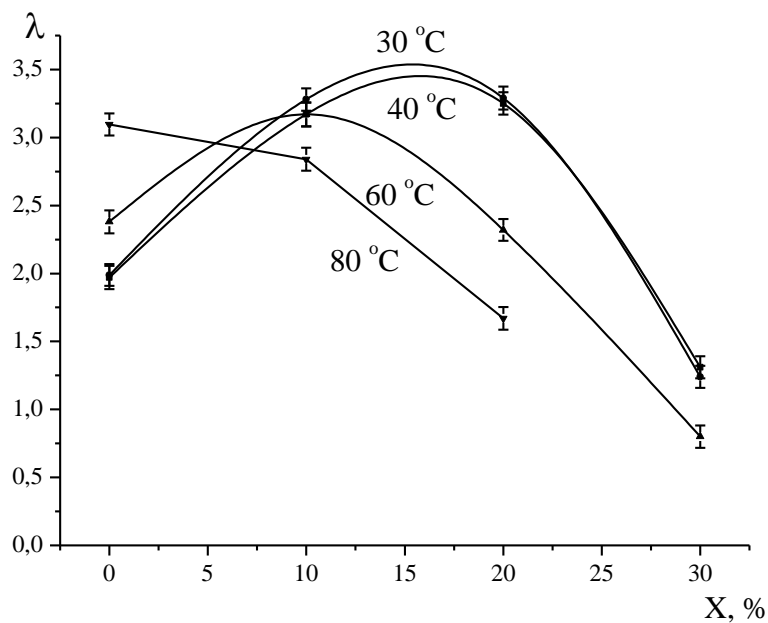


Рисунок 3.11 Зависимость коэффициента быстродействия от содержания ацетонитрила в элюенте при разделении малолетучих веществ (фенол – м-крезол) и различных температурах. 1- 80 °C, 2 – 60 °C, 3 – 30 °C, 4 – 40.

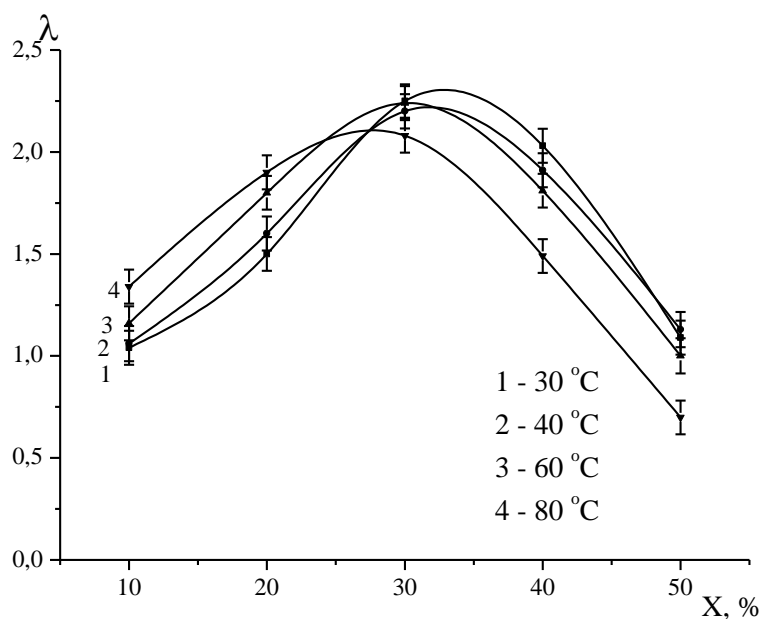


Рисунок 3.12 Зависимость коэффициента быстродействия от содержания ацетонитрила в элюенте для легколетучих веществ (бензол – толуол) при различных температурах.

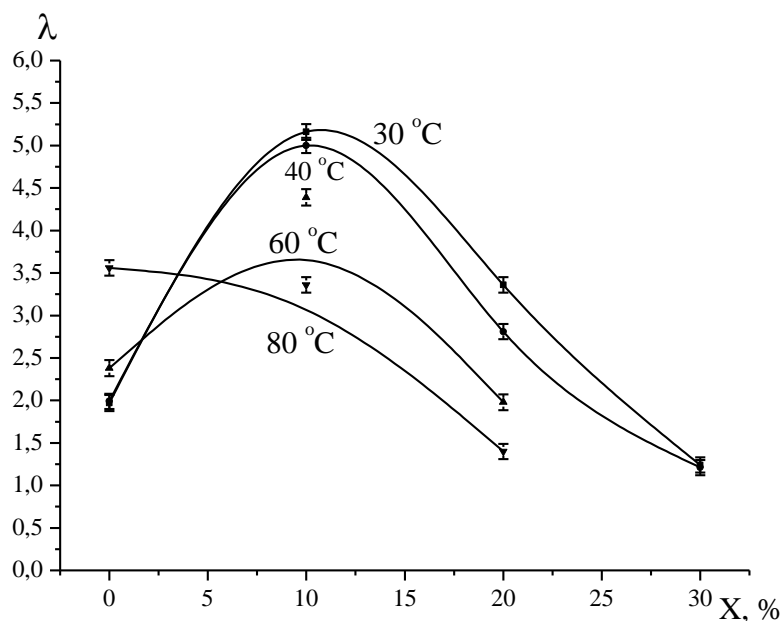


Рисунок 3.13 Зависимость коэффициента быстрогодействия от содержания ИС в элюенте при разделении малолетучих веществ (фенол – м-крезол) и различных температурах. 1- 30 °C, 2 – 40 °C, 3 – 60 °C, 4 – 80 °C.

Анализ кривых по данным зависимостей быстрогодействия хроматографической колонки от температуры показал, что при содержаниях ацетонитрила - 0%, 10 % коэффициент быстрогодействия снижается как на ацетонитриле, так и на изопропиловом спирте при разделении малолетучих аналитов (фенол и м-крезол) (рис. 3.14, 3.16). А при разделении легколетучих аналитов (бензол и толуол) коэффициент быстрогодействия снижается при содержании ацетонитрила – 10 % и 20 % (рис. 3.15).

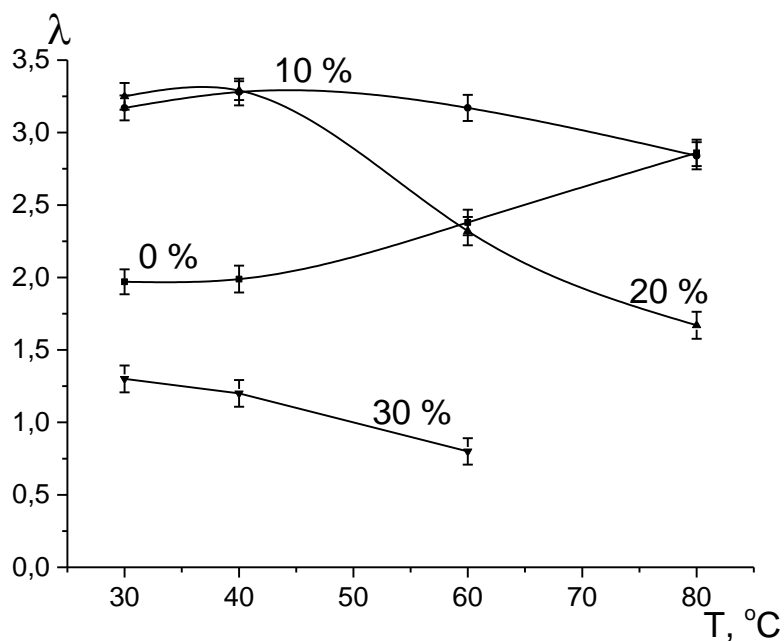


Рисунок 3.14 Зависимость коэффициента быстроедействия от температуры при разделении малолетучих веществ (фенол – м-крезол) и различном содержании ацетонитрила в элюенте. 1 – 30 % ацетонитрила, 2 – 0 %, 3 – 20 %, 4 – 10 %.

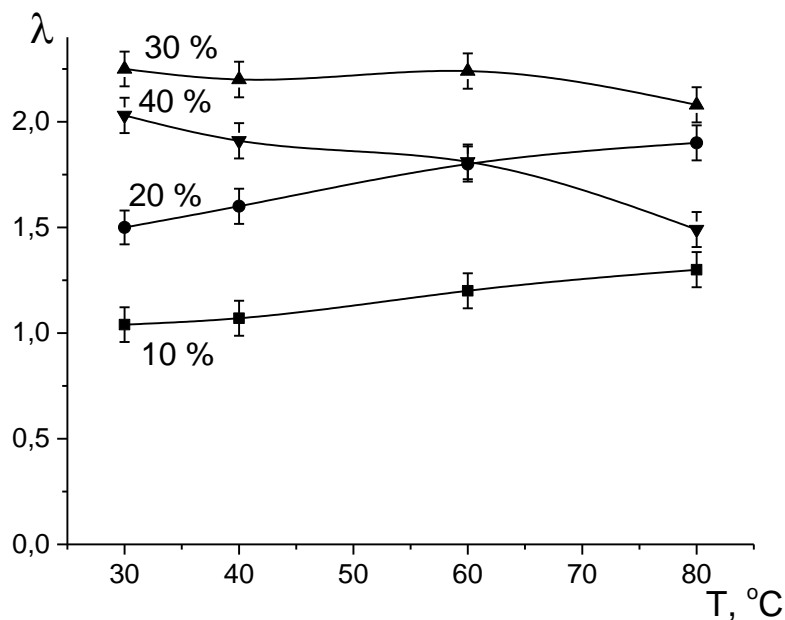


Рисунок 3.15 Зависимость коэффициента быстроедействия от температуры при разделении легколетучих веществ (бензол – толуол) и различном содержании ацетонитрила в элюенте. 1 – 50 % ацетонитрила, 2 – 10 %, 3 – 40 %, 4 – 20 %, 5 – 30 %.

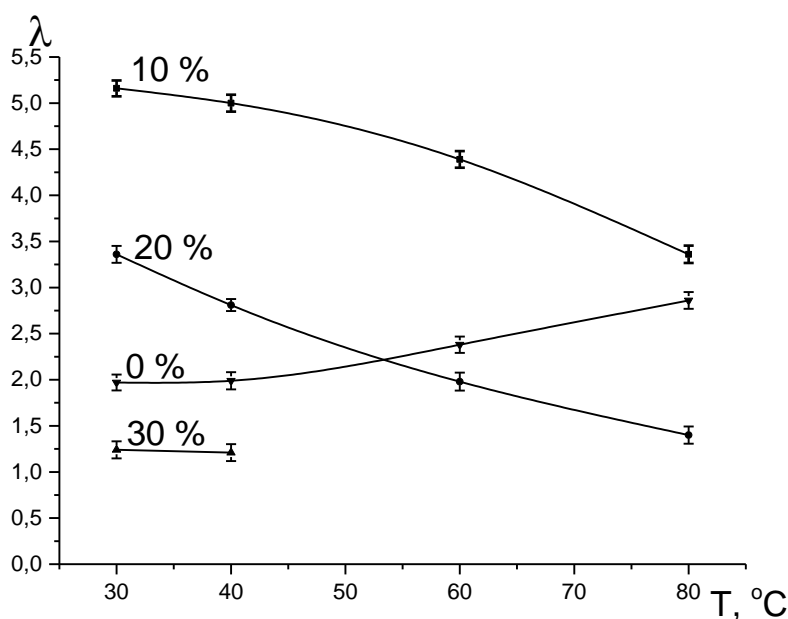


Рисунок 3.16 Зависимость коэффициента быстрого действия от температуры при разделении малолетучих веществ (фенол – м-крезол) и различном содержании ИС в элюенте. 1 – 30 % ИС, 2 – 20 % ИС, 3 – 10 % ИС.

Определение объема СГФ в хроматографической колонке по разности свободного объема колонки и объема жидкой фазы в колонке, определенного гравиметрически, технически довольно сложно, учитывая высокое давление в колонке, и обеспечивает приемлемую для практики погрешность, если объем СГФ составляет не менее 10 % от свободного объема колонки. Более рациональным является определение объема СГФ по объему удерживания какого-либо практически не адсорбирующегося на октадецилсиликагеле тестового вещества, имеющего достаточно низкий коэффициент распределения  $K$ , который обеспечивал бы его значительное удерживание за счет распределения между подвижной жидкой фазой и СГФ. Если пренебречь адсорбцией вещества, то его объем удерживания ( $V_R$ ) можно определить по формуле:

$$V_R = V_G/K, \quad (3.1)$$

где  $V_G$  – объем СГФ. В качестве подобного вещества в настоящей работе использовался ацетилен.

Полученные температурные зависимости объемов удерживания аналитов с различной летучестью (рис. 3.17) из чистой воды могут быть объяснены с позиции существования СГФ в порах сорбентах. Повышение температуры, приводит к

увеличению смачиваемости сорбента и, как следствие, к заполнению его пор водой. При этом увеличивается объем жидкости в хроматографической колонке и, соответственно, объем удерживания  $\text{KNO}_3$ . Объем СГФ при этом уменьшается. Объем удерживания ацетилена практически не изменяется, поскольку с повышением температуры уменьшается не только  $V_G$ , но и  $K$ , поскольку увеличивается концентрация компонента в газовой фазе.

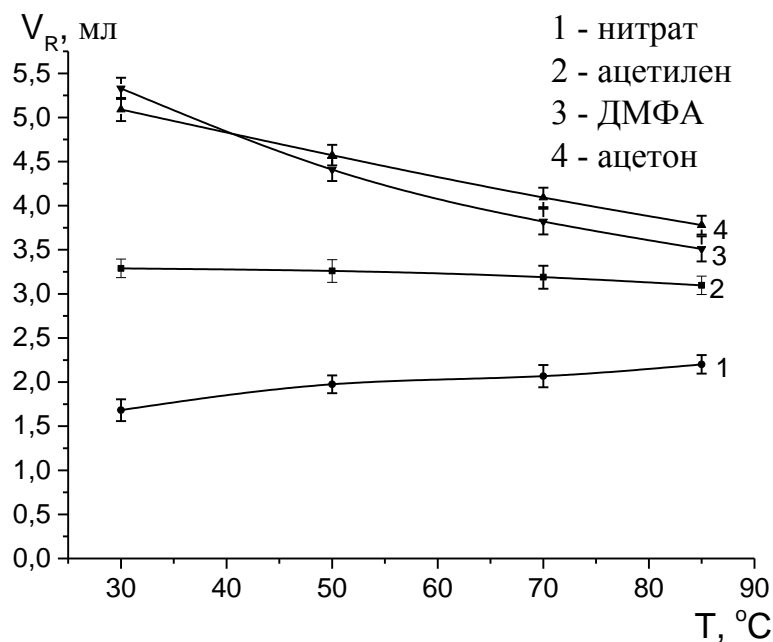


Рисунок 3.17 Зависимость объемов удерживания аналитов с различной летучестью от температуры. 1 – нитрат калия, 2 – ацетилен, 3 – ДМФА, 4 – ацетон.

Поведение ацетона и ДМФА можно расценивать как традиционное – при повышении температуры происходит уменьшение их параметров удерживания, хотя для менее летучего ДМФА это уменьшение резче. Нетипичные температурные зависимости параметров удерживания для некоторых аналитов в ОФ ВЭЖХ и возможные причины их возникновения неоднократно обсуждались в литературе [56, 57]. Обнаруженная нами инверсия параметров удерживания аналитов с различной летучестью (ацетона и ДМФА) при изменении температуры (рис. 3.17) подобна инверсии при изменении давления, которую недавно обнаружили японские исследователи, объяснив её также стационарной газовой в порах сорбента [48]. Информация о полученных в настоящей работе результатах в таблично-численной форме приведена в приложении (таб. 1-20) на странице 47-53.



### Выводы

На основании выполненных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Повышение температуры позволяет в несколько раз повысить эффективность массообмена (снизить величину ВЭТТ) в обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии независимо от летучести аналитов в присутствии газовой фазы.
2. Негативное влияние летучести на размытие хроматографических пиков, приводящее к их высокой продольной диффузии, проявляется лишь при низких содержаниях органических модификаторов (ацетонитрила и изопропанола) или их отсутствии в элюенте и при повышенных температурах. Подобное влияние может быть объяснено с наличием стационарной газовой фазы в порах сорбента, которое подтверждается температурными зависимостями параметров удерживания аналитов с различной летучестью.
3. Закономерности удерживания аналитов косвенно свидетельствуют о наличии стационарной газовой фазы в порах сорбента.
4. Установлено наличие максимума на зависимости быстродействия от содержания органического компонента при различных температурах. Положение этого максимума сдвигается в область более низких концентраций органического модификатора при повышении температуры.

### Список использованной литературы

1. Heinisch, S., Desmet, G., Clicq, D. & Rocca, J. Kinetic plot equations for evaluating the real performance of the combined use of high temperature and ultra-high pressure in liquid chromatography Application to commercial instruments and 2 . 1 and 1 mm I . D . columns. *J. Chromatogr. A* (2008). V. 1203, 124–136 p.
2. Hartonen, K. & Riekkola, M. Liquid chromatography at elevated temperatures with pure water as the mobile phase. *J. Chromatogr. A* (2008). V. 27, 1–14 p.
3. Guillarme, D., Heinisch, S. & Rocca, J. L. Effect of temperature in reversed phase liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* (2004). V. 1052, 39–51 p.
4. Yang, Y. A model for temperature effect on column efficiency in high-temperature liquid chromatography. *Anal. Chim. Acta* (2006). V. 558, 7–10 p.
5. Рудаков О.Б., Востров И.А., Федоров С.В., Филлипов А.А., Селеменев В.Ф., Приданцев А.А.. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии. Воронеж: Водолей (2004). 528 с.
6. Бауэр Г., Энгельгард Х., Хеншен А. и др. / пер. с англ. под ред. А. Хеншен и др. Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии. М.: Мир, (1988). 688 с.
7. Москвин Л.Н. и др. Аналитическая химия. Т.2. Методы разделения и концентрирования. М.: Академия (2008). 74 с.
8. Золотов Ю.А.. Основы Аналитической химии. М.: «Высшая школа» (2008). Т1. С.360.
9. Horvath, Cs.; Melander, W.; Molnar, I. Solvophobic interactions in liquid chromatography with nonpolar stationary phases. *J. Chromatogr.* (1976). V. 125, 129–156 p.
10. Lynn A., Cole & John G. Dorsey. Temperature dependence of retention in reversed-phase liquid chromatography. 1. Stationary-Phase considerations. *Anal. Chem.* (1992). V. 64, 1317–1323 p.
11. Martire, D.E.; Boehm, R.E. Unified theory of retention and selectivity in reversed-phase liquid chromatography. *J. Phys. Chem.* (1983). V. 87, 1045-1062 p.
12. Tchaplal, A.; Heron, S.; Colin, H. Synthesis and characterization of polymeric C18 stationary phases for liquid chromatography *Anal. Chem.* (1988) V. 248, 325-329 p.
13. Yamamoto, F. M.; Rokushika, S.; Hatano, H. Liquid column chromatography. *J.*

- Chromatogr. Sci. (1989). V. 27, 704-709 p.
14. Issaq, H.J., Jaroniec, M. Water mobile phase composition on adsorption. J.Liq.Chromatogr. (1989). V. 12, 2067-2082 p.
  15. Issaq, H.J., Fox, S.D., Lindsey, K. Advances in chromatography. J.Liq.Chromatogr. (1987). V. 10, 49-70 p.
  16. Sander, L. C., Field, L.R. Effect of eluent on thermodynamic properties in high performance liquid chromatography. Anal. Chem. (1980). V. 52, 2009-2013 p.
  17. Wenclawiak, B. W., Giegold, S. & Teutenberg, T. High-temperature liquid chromatography. Anal. Lett. (2008). V. 41, 1097–1105 p.
  18. Dolan, J. W., Snyder, L. R., Blanc, T. & Heukelem, L. Van. Selectivity differences for C 18 and C 8 reversed-phase columns as a function of temperature and gradient steepness I . Optimizing selectivity and resolution. J. Chromatogr. A(2000). V. 897, 37–50 p.
  19. Dolan, J. W., Snyder, L. R. & Blanc, T. Selectivity differences for C 18 and C 8 reversed-phase columns as a function of temperature and gradient steepness II . Minimizing column reproducibility problems. J. Chromatogr. A(2000). V. 897, 51–63 p.
  20. Han, S., Yu, H., Pei, Y. RSC Advances Selectivity-column temperature relationship as a new strategy in predicting separation of structural analogues in HPLC by using different stationary. RSC Adv. (2015). V. 5, 62686–62696 p.
  21. D. Bolliet, C.F. Poole. Influence of solute size and site-specific surface interactions on the prediction of retention in liquid chromatography using the solvation parameter model. Analyst (1998). V. 123, 295 p.
  22. Ueki, Y., Umemura, T., Iwashita, A. Y. Rapid Reversed-phase Separation Using Methacrylate-based C18 Monolithic Capillary Columns at High Flow Rates and Elevated Temperatures. Chem. Lett. (2005). V. 34, 1198–1199 p.
  23. P.L. Zhu, J.W. Dolan, L.R. Snyder. Combined use of temperature and solvent strength in reversed-phase gradient elution I. Predicting separation as a function of temperature and gradient conditions. J. Chromatogr. A (1996). V. 63, 756 p.
  24. P.L. Zhu, J.W. Dolan, L.R. Snyder. Combined use of temperature and solvent strength in reversed-phase gradient elution II. Comparing selectivity for different samples and systems. J. Chromatogr. A (1996). V. 21, 756 p.

25. P.L. Zhu, J.W. Dolan, L.R. Snyder. Combined use of temperature and solvent strength in reversed-phase gradient elution. I. Predicting separation as a function of temperature and gradient conditions. *J. Chromatogr. A* (1996). V. 63, 756 p.
26. Naijun Wu Qinglin Tang J. Andreas Lippert. Packed capillary column solvating gas chromatography using neat water mobile phase and flame ionization detection. *J. Microcolumn Sep. banner* (2001). V. 13, 41-47 p.
27. Lena M. Nyholm, Per J.R. High-temperature open tubular liquid chromatography coupled to atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* (1996). V. 755, 153-164 p.
28. Nikitas, P., Papachristos, K. & Zisi, C. Modeling the combined effect of temperature and organic modifier content on reversed-phase chromatographic retention Effectiveness of derived models in isocratic and isothermal mode retention prediction. *J. Chromatogr. A* (2008). V. 1201, 27–34 p.
29. Li J, Carr PW. Effect of temperature on the thermodynamic properties, kinetic performance, and stability of polybutadiene-coated zirconia. *Anal. Chem.* (1997). V. 837, 69 p.
30. Waterlot, C. & Goulas, A. Temperature Effects on Retention and Separation of PAHs in Reversed-Phase Liquid Chromatography Using Columns Packed with Fully Porous and Core-Shell Particles. *J. Chem.* (2016). V. 2016, 12 p.
31. Vanhoenacker, G. & Sandra, P. High temperature and temperature programmed HPLC : possibilities and limitations. *Anal. Bioanal. Chem.* (2008). V. 390, 245–248 p.
32. Yang, Y. A model for temperature effect on column efficiency in high-temperature liquid chromatography. *Anal. Chim. Acta* (2006). V. 558, 7–10 p.
33. Smith RM, Burgess RJ. On-line coupling of solid-phase extraction of phenols on porous graphitic carbon and LC separation on C18 silica gel column via subcritical water desorption. *J. Chromatogr. A* (1997). V. 785, 49-55 p.
34. Teutenberg, T. Potential of high temperature liquid chromatography for the improvement of separation efficiency-A review. *Anal. Chim. Acta* (2009). V. 643, 1–12 p.
35. De Pauw, R., Pursch, M. & Desmet, G. Using the column wall itself as resistive heater for fast temperature gradients in liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*

- (2015). V. 1420, 129–134 p.
36. P. Molander, A. Thomassen, E. Lundanes. Temperature programmed liquid chromatography. *J. Sep. Sci.* (2001). V. 24, 947-954 p.
37. Y. Yang, M. Belghazi, A. Lagadec. Solvation characteristics of pressurized hot water and its use in chromatography. *Anal. Commun.* (1999). V. 36, 71-75 p.
38. Takashi Y., Ryoji N., Kayori S. Superheated water chromatography of low molecular weight polyethylene glycols with ultraviolet detection. *Anal. Sciences* (2005). V. 21, 1001 p.
39. P. Szabelski, A. Cavazzini, K. Kaczmarek. Experimental studies of pressure/temperature dependence of protein adsorption equilibrium in reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* (2002). V. 950, 41 p.
40. Москвин Л.Н., Родинков О.В. Жидкостно-газоадсорбционная хроматография в процессах концентрирования летучих органических веществ из водных растворов. *Журн. аналит. химии* (1996). Т. 51, № 11, с. 1133-1136.
41. Москвин Л.Н., Родинков О.В. Жидкостно-газоадсорбционная хроматография. *Журн. аналит. химии* (2004). Т. 59, № 12, с. 1283-1288.
42. Москвин Л.Н., Горшков А.И., Гумеров М.Ф. Доклады АН СССР (1982). Т. 265. №2. С. 378
43. Москвин Л.Н., Горшков А.И., Гумеров М.Ф. Жидкостно-газовая хроматография и хроматомембранный массообменный процесс в системе жидкость-газ. *Журн. Физ. Химии.* (1983). Т.57. №8. С. 1979.
44. Фролов Ю.Г. Курс коллоидной химии. М.: Химия (1989). 494 с.
45. Сумм Б.Д. Горюнов Ю.В. Физико-химические основы смачивания и растекания. М.: Химия (1976). С. 80, 102.
46. Киселев А.В., Яшин Я.И. Газо-адсорбционная хроматография. М.:Наука (1967). 256 с.
47. Родинков О.В., Сбитнев С.В., Москвин Л.Н. Влияние температуры на удерживание летучих органических веществ из водных растворов на неполярных полимерных сорбентах. *Журн. Физ. Химии* (1998). Т.72. №2. С. 337-339
48. Nakamura, K., Nakamura, H., Saito, S. & Shibukawa, M. Surface-Bubble-Modulated Liquid Chromatography: A New Approach for Manipulation of Chromatographic

- Retention and Investigation of Solute Distribution at Water/Hydrophobic Interfaces. J. Chromatogr. A (2015). V. 87, 1180-1187 p.
49. Лурье А.А. Хроматографические материалы (справочник). М., Химия (1978). С. 75.
50. ГОСТ 8.207-76. Прямые измерения с многократными наблюдениями. Методы обработки результатов наблюдения.
51. Чарыков. А.К. Математическая обработка результатов химического анализа. Л.: Химия (1984). 168 С.
52. А.А. Потехина. Свойства органических соединений (справочник). Л.:Химия (1984). 520 с.
53. Н.В. Лазарева. Вредные вещества в промышленности. Справочник для химиков, инженеров и врачей. Изд. 7-ое. Л.: Химия (1976). Т. 1. Органические соединения. С.28.
54. Витенберг А.Г., Иоффе Б.В. Газовая экстракция в хроматографическом анализе: Парофазный анализ и родственные методы. Л.: Химия (1982). С. 28.
55. Vitenberg A.G., Novikaite N.V., Kostkina M.I. // Chromatographia (1993). Vol. 35. pp. 661–666.
56. Kwietniewski L., Rucyk M. The use of Ościk's equation to describe the retention in reversed phase liquid chromatography. J. Chromatogr. A. (2017). V. 1496, 45 – 50 p.
57. Anghel, T. G. D. & Aboul-enein, V. D. H. Y. Unusual Temperature-Retention Dependences Observed for Several Benzodiazepines in RP-HPLC Using Different Mobile Phase Compositions. J. Chromatogr. A. (2013). V. 210, 1623–1630 p.

## Приложение

Таблица 1 Значения ВЭТТ от температуры для аналитов различной летучести (фенол, м-крезол, бензол, толуол). Концентрация ацетонитрила в элюенте – 15 %. Расход – 2 мл/мин. Колонка (20×4) мм.

Т, °С	(ВЭТТ±Δ) мкм			
	фенол	м-крезол	бензол	толуол
30	275±4	258±4	254±4	280±4
40	195±4	202±4	221±4	233±4
60	145±4	167±4	156±4	181±4
80	135±4	151±4	148±4	140±4

Таблица 2 Значения ВЭТТ от скорости потока подвижной фазы для аналитов различной летучести (фенол, м-крезол, бензол, толуол). Концентрация ацетонитрила в элюенте – 15 %. Колонка (20×4) мм.

W, мл/мин	(ВЭТТ±Δ) мкм			
	фенол	м-крезол	бензол	толуол
0,5	144±4	171±4	236±4	300±4
1	156±4	167±4	142±4	170±4
1,5	187±4	201±4	128±4	138±4
2	254±4	258±4	150±4	151±4

Таблица 3 Значения ВЭТТ от содержания ацетонитрила в элюенте при разделении бензола и нитробензола на колонке (20×4) мм и при температуре 80°С.

X, %	(ВЭТТ±Δ) мкм	
	бензол	нитробензол
0	91±4	52±4
4	110±4	54±4
8	117±4	59±4
12	106±4	66±4
16	101±4	78±4
20	95±4	86±4
24	92±4	93±4
30	72±4	85±4

Таблица 4 Значения ВЭТТ от содержания ацетонитрила в элюенте при разделении бензола и нитробензола на колонке (20×4) мм и при температуре 30°C.

X, %	(ВЭТТ±Δ) мкм	
	бензол	нитробензол
0	68±1	73±1
4	67±1	69±1
8	56±1	58±1
12	56±1	55±1
16	55±1	54±1
20	57±1	53±1
24	55±1	53±1
30	59±1	59±1

Таблица 5 Влияние температуры на коэффициент селективности при разделении фенола и м-крезола на колонке (20×4) мм и различном содержании ацетонитрила в элюенте. Расход 1 мл/мин. Мертвое время – 0,22 мин.

T, °C	X, %			
	0	10	20	30
	$\alpha \pm \Delta$			
30	3,66±0,08	2,73±0,08	2,09±0,08	1,63±0,08
40	3,57±0,08	2,63±0,08	2,04±0,08	1,60±0,08
60	3,32±0,08	2,46±0,08	1,901±0,08	1,56±0,08
80	3,04±0,08	2,29±0,08	1,804±0,08	1,47±0,08

Таблица 6 Влияние температуры на коэффициент селективности при разделении бензола и толуола на колонке (20×4) мм и различном содержании ацетонитрила в элюенте. Расход 1 мл/мин. Мертвое время – 0,22 мин.

T, °C	X, %				
	10	20	30	40	50
	$\alpha \pm \Delta$				
30	3,19±0,08	2,56±0,08	2,06±0,08	1,69±0,08	1,49±0,08
40	3,01±0,08	2,47±0,08	1,99±0,08	1,68±0,08	1,47±0,08
60	2,81±0,08	2,27±0,08	1,88±0,08	1,60±0,08	1,42±0,08
80	2,60±0,08	2,13±0,08	1,77±0,08	1,50±0,08	1,36±0,08



Таблица 7 Влияние температуры на коэффициент селективности при разделении фенола и м-крезола на колонке (20×4) мм и различном содержании изопропилового спирта в элюенте. Расход 1 мл/мин. Мертвое время – 0,22 мин.

Т, °С	X, %			
	0	10	20	30
	$\alpha \pm \Delta$			
30	3,66±0,08	2,57±0,08	1,92±0,08	1,46±0,08
40	3,57±0,08	2,46±0,08	1,81±0,08	1,40±0,08
60	3,32±0,08	2,29±0,08	1,64±0,08	1,20±0,08
80	3,04±0,08	2,11±0,08	1,51±0,08	--

Таблица 8 Влияние температуры на степень разделения фенола и м-крезола на колонке (20×4) мм при различном содержании ацетонитрила в элюенте. Расход 1 мл/мин. Мертвое время – 0,22 мин.

Т, °С	X, %			
	0	10	20	30
	$R \pm \Delta$			
30	4,86±0,09	3,65±0,09	2,28±0,09	1,09±0,09
40	4,57±0,09	3,29±0,09	2,09±0,09	1,03±0,09
60	3,94±0,09	2,70±0,09	1,59±0,09	0,776±0,09
80	3,38±0,09	2,13±0,09	1,20±0,09	--

Таблица 9 Влияние температуры на степень разделения бензола и толуола на колонке (20×4) мм при различном содержании ацетонитрила в элюенте. Расход 1 мл/мин. Мертвое время – 0,22 мин.

Т, °С	X, %			
	10	20	30	40
	$R \pm \Delta$			
30	4,14±0,08	3,51±0,08	2,83±0,08	1,81±0,08
40	3,87±0,08	3,32±0,08	2,65±0,08	1,76±0,08
60	3,38±0,08	2,80±0,08	2,21±0,08	1,54±0,08
80	2,99±0,08	2,54±0,08	1,82±0,08	1,23±0,08

Таблица 10 Влияние температуры на степень разделения фенола и м-крезола на колонке (20×4) мм при различном содержании изопропилового спирта в элюенте.

Расход 1 мл/мин. Мертвое время – 0,22 мин.

T, °C	X, %			
	0	10	20	30
	R±Δ			
30	4,86±0,09	3,37±0,08	1,96±0,08	0,93±0,08
40	4,57±0,09	3,01±0,08	1,68±0,08	0,86±0,08
60	3,94±0,09	2,39±0,08	1,23±0,08	--
80	3,38±0,09	1,88±0,08	1,01±0,08	--

Таблица 11 Зависимость коэффициента бысродействия от содержания ацетонитрила при разделении фенола и м-крезола на колонке (20×4) мм и различных температурах.

Расход 1 мл/мин. Мертвое время – 0,22 мин.

X, %	T, °C			
	30	40	60	80
	λ±Δ			
0	1,97±0,08	1,99±0,08	2,38±0,08	3,09±0,08
10	3,17±0,08	3,28±0,08	3,17±0,08	2,84±0,08
20	3,25±0,08	3,29±0,08	2,32±0,08	1,67±0,08
30	1,31±0,08	1,24±0,08	0,80±0,08	--

Таблица 12 Зависимость коэффициента бысродействия от содержания ацетонитрила

при разделении бензола и толуола на колонке (20×4) мм и различных температурах. Расход 1 мл/мин. Мертвое время – 0,22 мин.

X, %	T, °C			
	30	40	60	80
	λ±Δ			
10	1,04±0,08	1,06±0,09	1,16±0,08	1,34±0,08
20	1,50±0,08	1,60±0,08	1,80±0,08	1,90±0,08
30	2,25±0,08	2,20±0,08	2,24±0,08	2,08±0,08
40	2,03±0,08	1,91±0,08	1,81±0,08	1,49±0,08
50	1,09±0,08	1,13±0,09	1,01±0,08	0,69±0,08

Таблица 13 Зависимость коэффициента бысродействия от содержания ИС при разделении фенола и м-крезола на колонке (20×4) мм и различных температурах.

Расход 1 мл/мин. Мертвое время – 0,22 мин.

X, %	T, °C			
	30	40	60	80
	$\lambda \pm \Delta$			
0	1,97±0,09	1,99±0,09	2,38±0,09	3,56±0,09
10	5,16±0,09	5,02±0,09	4,39±0,09	3,36±0,09
20	3,36±0,09	2,81±0,09	1,98±0,09	1,98±0,09
30	1,24±0,09	1,21±0,09	--	--

Таблица 14 Зависимость коэффициента бысродействия от температуры при разделении фенола и м-крезола на колонке (20×4) мм. Расход 1 мл/мин. Мертвое время – 0,22 мин.

T, °C	X, %			
	0	10	20	30
	$\lambda \pm \Delta$			
30	1,97±0,08	3,17±0,08	3,25±0,09	1,30±0,09
40	1,99±0,08	3,28±0,08	3,29±0,07	1,20±0,09
60	2,38±0,08	3,17±0,08	2,32±0,09	0,81±0,09
80	2,86±0,08	2,84±0,08	1,67±0,09	--

Таблица 15 Зависимость коэффициента бысродействия от температуры при разделении бензола и толуола на колонке (20×4) мм. Расход 1 мл/мин. Мертвое время – 0,22 мин.

T, °C	X, %			
	10	20	30	40
	$\lambda \pm \Delta$			
30	1,04±0,08	1,51±0,08	2,25±0,08	2,03±0,08
40	1,07±0,08	1,63±0,08	2,21±0,08	1,91±0,08
60	1,23±0,08	1,82±0,08	2,24±0,08	1,81±0,08
80	1,31±0,08	1,93±0,08	2,08±0,08	1,49±0,08

Таблица 16 Зависимость коэффициента быстродействия от температуры при разделении фенола и м-крезола на колонке (20×4) мм и различном содержании ИС.

Расход 1 мл/мин. Мертвое время – 0,22 мин.

Т, °С	Х, %			
	0	10	20	30
	$\lambda \pm \Delta$			
30	5,16±0,08	3,36±0,08	1,97±0,08	1,24±0,09
40	5,02±0,08	2,81±0,08	1,99±0,08	1,21±0,09
60	4,39±0,08	1,98±0,08	2,38±0,08	--
80	3,36±0,08	1,4±0,08	2,86±0,08	--

Таблица 17 Зависимость объемов удерживания аналитов с различной летучестью от температуры (колонка 250×4,6 мм).

Т, °С	аналит			
	ацетилен	нитрат	ацетон	ДМФА
	$V_R \pm \Delta$			
30	3,29±0,10	1,68±0,12	5,09±0,13	5,33±0,12
50	3,26±0,13	1,97±0,10	4,57±0,12	4,41±0,13
70	3,19±0,13	2,07±0,13	4,09±0,11	3,82±0,14
85	3,09±0,10	2,20±0,10	3,78±0,11	3,51±0,14

Таблица 18. Время анализа в зависимости от температуры и содержании ацетонитрила при разделении фенола и м-крезола на колонке (20×4) мм.

Т, °С	Х, %			
	0	10	20	30
	$t_{ан}, \text{МИН}$			
30	12	4,2	1,7	0,90
40	10,5	3,3	1,4	0,85
60	6,5	2,3	1,1	0,75
80	4	1,6	0,86	0,60

Таблица 19. Время анализа в зависимости от температуры и содержания ацетонитрила при разделении бензола и толуола на колонке (20×4) мм.

Т, °С	Х, %			
	10	20	30	40
	t <sub>ан</sub> , МИН			
30	16,5	7,9	3,5	1,7
40	14	6,6	3,0	1,6
60	9,8	4,5	2,2	1,2
80	6,7	3,2	1,6	1,0

Таблица 20. Время анализа в зависимости от температуры и содержания ИС при разделении фенола и м-крезола на колонке (20×4) мм.

Т, °С	Х, %		
	10	20	30
	t <sub>ан</sub> , МИН		
30	2,2	1,1	0,7
40	1,8	1,0	0,6
60	1,3	0,8	-
80	1,0	0,7	-